

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Les propriétés des antisensibilisatrices
ET
les théories chimiques de l'immunité

PAR LE D^r JULES BORDET

Directeur de l'Institut Pasteur de Bruxelles.

Parmi les questions qui se rattachent à l'étude de l'immunité, celle de la spécificité des sérums est au nombre des plus importantes et aussi, il faut le reconnaître, des plus difficiles à résoudre. Le problème est fort complexe. Les anticorps qu'on trouve dans les immunsérum sont, on le savait depuis longtemps, spécifiques, en ce sens qu'ils agissent sur certains éléments, et non sur d'autres. Mais, à côté de cette spécificité d'action, il semble bien qu'on doive leur reconnaître, en outre, une spécificité d'origine. Par exemple, il convient de définir une sensibilisatrice quelconque (ambocepteur, fixateur) non seulement en désignant le globule ou le microbe qu'elle impressionne, mais encore en précisant l'espèce animale qui l'a élaborée. Deux sensibilisatrices, actives toutes deux contre le vibrio cholérique, mais dont l'une provient du lapin et l'autre du cobaye, ne se comporteront point, en toute circonstance, d'une manière complètement identique ; il en est de même pour ce qui concerne les sérums antitoxiques. On sait notamment que la durée de l'immunité passive conférée par un sérum préventif varie suivant que ce sérum provient d'un animal semblable à celui qu'on injecte, ou d'un organisme appartenant à une espèce différente.

L'étude des antisensibilisatrices est tout particulièrement susceptible de nous documenter à ce point de vue de la spécificité des sérum, et notamment de nous apprendre si cette propriété est aussi stricte et absolue qu'on pourrait le supposer. *A priori*, il est assez rationnel de prévoir que c'est à propos des antisensibilisatrices (ou, d'une manière plus générale, des anticorps) que la loi de la spécificité apparaîtra avec le plus d'évidence. Elles agissent en effet sur des substances qui, étant aussi des anticorps, sont elles-mêmes spécifiques et le sont, comme nous venons de le rappeler, au double titre de l'action et de la provenance. On a donc bien des chances, en les considérant, de voir la spécificité se manifester de la façon la plus curieuse et la plus instructive.

C'est en vaccinant des animaux contre un sérum hémolytique que l'on put signaler l'apparition d'une antisensibilisatrice dans le sang de l'organisme traité. Après avoir montré¹, en 1899 (à la suite des travaux de Camus et Gley, Kossel, sur l'antitoxine du sérum d'anguille), que si l'on injecte à un animal d'espèce A (lapin) du sérum d'espèce B (poule), cet animal A fournit bientôt un sérum capable de neutraliser le pouvoir hémolytique du sérum B à l'égard des globules d'espèce A, nous fimes connaître ensuite, d'une manière plus détaillée, les propriétés des sérum antihémolytiques². Ayant injecté à des lapins du sérum hémolytique spécifique, provenant de cobayes immunisés au préalable contre les globules rouges de lapin, nous constatâmes que ces lapins fournissaient un antisérum capable de paralyser l'influence hémolytique de ce sérum spécifique de cobaye, et qui, chose assez remarquable, dirigeait son activité à la fois contre les deux substances intervenant dans l'hémolyse. D'une part, en effet, il annihilait la sensibilisatrice caractérisant le sérum hémolytique de cobaye; de l'autre, il se montrait antitoxique à l'égard de l'alexine de cobaye (pouvoir antialalexique). Étant antialalexique, cet antisérum protégeait contre l'alexine (cytase, complément) de cobaye non seulement les hématies de lapin, mais aussi des éléments sensibles quelconques, tels que des microbes. Par exemple, des

1. Agglutination et dissolution des globules rouges par le sérum, 2^e mémoire. Ces Annales, avril 1899.

2. Les sérum hemolytiques, leurs antitoxines, etc. Ces Annales, mai 1900.

vibrions cholériques sensibilisés par du cholérasérum (de provenance quelconque, mais préalablement privé de son alexine propre, grâce au chauffage à 55°) pouvaient, sans se transformer en granules, être transportés dans du sérum frais de cobaye, pourvu que celui-ci eût été additionné d'une dose convenable de l'antisérum¹. Bref, l'addition d'antisérum à l'alexine de cobaye abolissait toutes les manifestations — soit hémolytiques, soit bactéricides — de cette substance. L'antialalexine était nettement spécifique; elle n'exerçait point d'influence sur les propriétés hémolytiques ou bactéricides des sérum provenant de la plupart des animaux autres que le cobaye.

Le pouvoir antialalexique de pareils antisérum fut étudié ensuite par divers observateurs. M. Wassermann, notamment, put confirmer l'expérience, ci-dessus rappelée, du rôle antibactéricide de l'antialalexine; il y apporta même une modification intéressante. Au lieu de neutraliser *in vitro*, par l'antisérum approprié, l'alexine du sérum frais, il opéra *in vivo*: injectant l'antisérum dans le péritoine, il put annihiler, dans la cavité même, chez l'animal vivant, le pouvoir bactéricide de l'excusudat.

Quant au pouvoir antisensibilisateur, c'est surtout dans ces derniers temps qu'il a vivement intéressé les expérimentateurs. Nous nous en occuperons particulièrement et aurons l'occasion, au cours du présent mémoire, de rappeler les faits qu'ils ont consignés.

I

PROPRIÉTÉS DES ANTISENSIBILISATRICES

Pour étudier fructueusement les antisensibilisatrices, il faut tout d'abord être en possession d'un cas favorable, d'un exemple se prêtant bien aux expériences. Le pouvoir antisensibilisateur n'est souvent que faiblement développé dans les antisérum; parfois même, on ne peut le déceler qu'à l'aide d'une technique un peu délicate; en outre, on est en pareil cas forcé d'employer, pour neutraliser efficacement une quantité

1. Cet antisérum devait, bien entendu, avoir été privé de son alexine propre par le chauffage à 55°. Cette température respecte l'antialalexine qui, dans cette expérience, protège les vibrions contre l'alexine de cobaye.

donnée de sensibilisatrice, des doses fort élevées d'antisérum, et cette nécessité constitue souvent un réel obstacle à la commodité et au succès des expériences.

Il faut donc que l'on dispose d'un antisérum dont le pouvoir antisensibilisateur soit accusé; il faut aussi que la sensibilisatrice contre laquelle l'antisérum est actif soit elle-même énergique. Il est nécessaire en outre que les sérum neufs provenant des espèces animales identiques à celles qui fournissent respectivement la sensibilisatrice ou l'antisensibilisatrice soient aussi inactifs que possible; ils interviennent en effet à titre de témoins de comparaison, chargés de mettre en relief les propriétés spéciales des immunserums.

Ces conditions sont réalisées d'une manière très satisfaisante dans l'exemple que nous avons choisi, et qui est le suivant :

La sensibilisatrice que nous ferons le plus souvent intervenir est du sérum de *lapins* qui ont été soumis, au préalable, à 3 ou 4 injections de 5 à 7 c. c. de *sang désébriné de bœuf*. Nous emploierons aussi, dans certaines expériences, du sérum de lapins immunisés contre d'autres globules, tels que ceux de poule ou d'homme. L'antisensibilisatrice est du sérum de *cobayes* qui ont reçu, au préalable, à 12-15 jours environ d'intervalle, 2 ou 3 injections de 3 à 5 c. c. de *sérum de lapin neuf*. On les saigne 15 jours après la dernière injection.

Avant de servir aux expériences, ces sérum sont privés de leur alexine par un chauffage d'une demi-heure à 55-56°. Cette température respecte, on le sait, la sensibilisatrice et l'antisensibilisatrice. Pour plus de simplicité, nous désignerons les sensibilisatrices sous les noms de sérum « *lapin-bœuf 56°* », « *lapin-poule 56°* », « *lapin-homme 56°* », et l'antisensibilisatrice sous le nom de « *antisérum cobaye-lapin 56°* ». Les sérum témoins seront naturellement : sérum *lapin neuf 56°*, sérum *cobaye neuf 56°*.

Comment faut-il instituer les expériences susceptibles de mettre en évidence le pouvoir antisensibilisateur? *A priori*, on peut recourir à deux méthodes fort différentes.

En premier lieu, on peut mélanger tout d'abord la sensibilisatrice et l'antisérum, ajouter après un certain temps les globules qui servent de réactif, et rechercher ensuite si ces éléments sont, grâce à l'antisérum, à l'abri de la sensibilisation à

l'influence de l'alexine. Cette manière de procéder a été fréquemment adoptée par les auteurs. Elle fait intervenir l'antisérum à titre préventif, puisque la sensibilisatrice est neutralisée avant d'avoir impressionné les globules.

Mais on peut tenter, d'autre part, de guérir par l'antisérum des globules déjà touchés par la sensibilisatrice. Des essais de ce genre ont été réalisés par Pfeiffer et Friedberger¹, qui opéraient non sur des globules, mais sur des microbés. Les expériences ainsi conçues sont fort comparables à celles que Mad-sen², Kraus et Lipschütz³ instituaient lorsqu'ils guérissaient, par l'addition d'antitoxines appropriées, des globules déjà intoxiqués par des poisons bactériens.

C'est ce second mode opératoire qui nous a paru mériter la préférence. Il permet, en effet, de faire agir l'antisérum sur une sensibilisatrice déterminée, à l'exclusion de toute autre. A côté de la sensibilisatrice spécifique, le sérum lapin-bœuf contient vraisemblablement soit une, soit (d'après certains auteurs) un grand nombre de substances analogues, mais qui sont normales et préexistaient, avant l'immunisation, dans les humeurs de l'animal neuf. Si l'on commence par mélanger l'antisérum et le sérum lapin-bœuf, il est à présumer que ces sensibilisatrices normales participeront à la réaction. Mais si l'on a soin de mettre d'abord en contact le sérum sensibilisateur et les globules de bœuf, de laver ensuite ceux-ci dans un grand volume d'eau physiologique pour éliminer le sérum en excès, puis de les introduire (ainsi chargés de la substance active spécifique qui électivement s'est fixée sur eux) dans l'antisérum, ce dernier rencontrera uniquement la sensibilisatrice spécialement appropriée à ce genre d'hématies et qui leur est combinable.

Reste à choisir l'alexine. Elle ne doit, bien entendu, être aucunement annihilée ou affaiblie par l'antisérum. Le plus simple est donc de faire intervenir le sérum frais de cobaye neuf, c'est-à-dire de l'espèce animale qui a fourni l'antisérum ; on peut prévoir, ce qui est confirmé par l'expérience, que ce

1. *Centralsblatt für Bakteriologie*, Orig., t. XXXIV, p. 72.

2. *Zeitschrift für Hygiene*, t. XXXII.

3. *Idem*, t. XLVI, p. 49.

dernier ne nuira pas à cette alexine. D'autre part, celle-ci s'accorde très bien avec les sensibilisatrices employées¹.

Voici comment, d'après ces données, on met en évidence l'influence antisensibilisatrice :

On prépare tout d'abord, d'une part du sang sensibilisé, d'autre part du sang non sensibilisé destiné à servir de contrôle. On verse dans deux larges tubes 1 c. c. de sang de bœuf lavé à l'eau physiologique². Dans le tube A, on introduit ensuite 2 c. c. de sérum lapin-bœuf 56°, et dans le tube B, 2 c. c. de sérum lapin neuf 56°. Environ une demi-heure après, on remplit les deux tubes d'eau physiologique, on agite et on centrifuge. On décanne par aspiration la totalité des liquides, et on ajoute aux sédiments de globules, pour les délayer, 3 c. c. de la solution physiologique. Les deux émulsions de globules obtenues ne diffèrent donc l'une de l'autre qu'en ce que, dans la première, les hématies se sont chargées de la sensibilisatrice spécifique et lui servent de véhicule. Préparons maintenant les mélanges suivants :

Tube a. — On y introduit 1/10 de centimètre cube de sang sensibilisé, et 3/10 de centimètre cube d'antisérum cobaye-lapin 56°.

Tube b. — Identique au précédent, sauf que l'antisérum est remplacé par du sérum de cobaye neuf 56° en quantité égale.

Tubes c et d. — Respectivement identiques aux tubes a et b, sauf qu'ils contiennent du sang non sensibilisé.

On attend une heure environ, puis on ajoute aux quatre tubes 1/10 de centimètre cube de sérum non chauffé, et récemment obtenu, de cobaye neuf (alexine).

On constate alors que l'hémolyse s'effectue très rapidement, en quelques minutes, dans le tube b. Dans les tubes a, c, d, les globules sont encore intacts après 24 heures. L'absence d'hémolyse dans le tube a est bien due à la neutralisation de la sensibilisatrice par l'antisérum. En effet, si l'on ajoute ultérieurement au tube a un peu de sérum lapin-bœuf 56°, on fait appa-

1. L'alexine d'homme convient également fort bien.

2. Ce sang lavé est « ramené à volume normal », c'est-à-dire qu'il est aussi riche en globules que le sang désébriné primitif. On verse dans un tube une petite quantité de sang désébriné, s'élevant à une hauteur qu'on note par un trait sur le verre. On remplit d'eau physiologique, on centrifuge, on aspire la totalité du liquide, et l'on ajoute de l'eau physiologique jusqu'à rétablissement du volume primitif.

paraître l'hémolyse ; d'autre part, on peut, avec les mêmes résultats, réaliser l'expérience ci-dessus résumée en remplaçant l'alexine de cobaye par une autre alexine (sérum humain par exemple) également insensible à l'action de l'antisérum.

L'expérience permet de mesurer la puissance antisensibilisatrice de l'antisérum. Au lieu de mélanger, à 1/10 de centimètre cube de sang sensibilisé, 3/10 de centimètre cube d'antisérum pur, ajoutons, à la même dose de ce sang, 3/10 de centimètre cube d'antisérum préalablement dilué dans un volume plus ou moins grand de sérum de cobaye neuf 56°. On constate, par de semblables essais, que les antisérumis provenant des différents cobayes traités ont une énergie très inégale. Le pouvoir neutralisant est parfois suffisamment accusé pour que 1/10 de centimètre cube d'antisérum préserve entièrement 1/10 de centimètre cube de sang sensibilisé contre l'influence alexique.

La technique étant établie, proposons-nous maintenant de répondre aux questions qui se présentent naturellement à l'esprit à propos des antisensibilisatrices : les unes (B, C, D, E) se rapportent plus spécialement à l'action de l'antisérum sur la sensibilisatrice. Les autres (A, F) se rattachent plutôt au problème de l'origine et de la diversité des anticorps :

A.) Un antisérum obtenu à la suite d'injections, à un animal d'espèce A, de sérum provenant d'un animal d'espèce B qui n'a subi aucune immunisation (sérum neuf), est-il capable de neutraliser efficacement les sensibilisatrices spécifiques que l'espèce B élabore lorsqu'on l'immunise contre certains éléments tels que des globules rouges ? L'expérience relatée répond affirmativement, puisque nos cobayes fournisseurs d'antisérum (lequel neutralise la sensibilisatrice spécifique lapin-bœuf) n'ont reçu que du sérum de lapin neuf. D'autre part, le résultat est identique si l'on remplace le sang de bœuf par du sang de poule ou d'homme, respectivement sensibilisés par les sérumis spécifiques lapin-poule ou lapin-homme. Il y a à cet égard concordance complète avec les données antérieures de divers auteurs, notamment de M. Ford¹. Ce savant — après avoir constaté que les hématies de poule sont agglutinées non seulement par le sérum de lapins immunisés contre le sang de poule, mais aussi, à un certain degré, par le sérum de lapin neuf — injecte

1. *Zeitschrift für Hygiene*, t. XL, 1902, p. 363.

à des poules, d'une part, du sérum normal de lapin; de l'autre, du sérum spécifique de lapins préalablement injectés de sang de poule (sérum lapin-poule). Il constate que chaque antisérum de poule, ainsi obtenu, neutralise indifféremment soit l'agglutinine spécifique de l'immunsérum lapin-poule, soit l'agglutinine normale du sérum de lapin neuf. MM. Pfeiffer et Riedberger¹ ont obtenu des résultats analogues en opérant sur des sérum actifs à l'égard non de globules, mais de microbes (choléra).

On peut donc admettre, en coordonnant ces résultats, qu'en règle générale l'antisérum obtenu à la suite d'injections de sérum neuf d'espèce A, et qui atteint les anticorps normaux, peut neutraliser aussi les différents anticorps spécifiques que cette espèce A élabore sous l'influence des traitements immunisants.

B.) L'antisensibilisatrice se consomme-t-elle en agissant, à l'exemple de tous les anticorps étudiés jusqu'à présent? En d'autres termes, un volume donné d'antisérum ne peut-il neutraliser qu'une dose limitée de sensibilisatrice? Il est presque superflu de dire que la réponse à cette question est affirmative; il existe une dose minimale au-dessous de laquelle l'antisérum ne protège plus les globules sensibilisés. Au surplus, on peut démontrer que l'introduction dans l'antisérum d'une quantité suffisante de globules de bœuf sensibilisés (traités d'abord par le sérum lapin-bœuf 56°, puis lavés) dépouille cet antisérum de son pouvoir antisensibilisateur; le liquide surnageant, décanté après centrifugation, n'abolit plus la sensibilisation de nouveaux globules². Bien entendu, si l'on traite l'antisérum par la même dose de globules non sensibilisés (mélangés d'abord à du sérum de lapin neuf 56°, puis lavés), le pouvoir antisensibilisateur persiste dans le liquide.

C.) L'antisérum représente-t-il une antitoxine vraie, neutralisant directement la sensibilisatrice, ou bien contrarie-t-il simplement, grâce à une action antagoniste quelconque, les effets de cette substance? Dans cet ordre d'idées, il y a lieu de rechercher si des globules sensibilisés, puis guéris par l'antisérum, peuvent être soumis au lavage par l'eau phy-

1. Berliner Klin. Wochenschrift, 1902, n° 1, et Centralblatt für Bakteriologie, t. XXXIV, 1903, p. 74.

2. L'expérience sera décrite en détail plus loin, à propos d'une autre question.

siologique, tout en restant réfractaires aux effets d'une addition ultérieure d'alexine.

L'expérience répond par l'affirmative. Mélangeons d'une part 1/10 de centimètre cube de sang sensibilisé et 3/10 de centimètre cube d'antisérum; d'autre part 1/10 de ce même sang et 3/10 de centimètre cube de sérum de cobaye neuf (chauffé à 56°). Au bout d'un certain temps, remplissons les tubes de solution physiologique, centrifugeons, décantons tout le liquide et délayons les deux sédiments de globules dans 3/10 de centimètre cube de sérum de cobaye neuf 56°. Introduisons alors de l'alexine (1/10 de centimètre cube de sérum frais de cobaye neuf). Pas d'hémolyse dans le tube qui a contenu l'antisérum; hémolyse très rapide dans l'autre. La guérison des globules ne réclame donc pas leur contact permanent avec l'antisérum.

D.) L'antisérum supprime-t-il, dans ses diverses manifestations, l'influence de la sensibilisatrice? La propriété la plus essentielle de celle-ci est de rendre les éléments impressionnés (globules, microbes, etc.) très sensibles à l'action destructive de l'alexine. Mais, comme nous l'avons montré², les sensibilisatrices possèdent aussi la propriété (laquelle est du reste corrélatrice de la première) de conférer aux globules, etc., appropriés, le pouvoir d'absorber énergiquement l'alexine, et d'en dépoiller ainsi le liquide ambiant. Il y a lieu, en conséquence, de rechercher si des globules sensibilisés, puis traités par l'antisérum, fixeront encore l'alexine. Or, l'expérience montre que dans ces conditions, l'alexine n'est plus absorbée.

Du sang défibriné de bœuf (au sérum duquel on a substitué comme d'habitude, par lavage, volume équivalent de solution physiologique) est mélangé, d'une part, à deux volumes de sérum lapin-bœuf 56°; d'autre part, à deux volumes de sérum de lapin neuf 56°. Après un contact suffisant, on remplit les tubes d'eau physiologique, on centrifuge et décante. On ajoute aux deux sédiments de globules un volume d'eau physiologique. On obtient ainsi des émulsions assez épaisses d'hématies qui ont ou n'ont pas subi la sensibilisation. On prépare ensuite :

1. On peut répéter ce lavage à plusieurs reprises.

2. Ces Annales, mai 1906.

Tube *a*. On y verse : 3/10 de centimètre cube de sang sensibilisé et 1,2 c. c. de sérum de cobaye neuf 56°.

Tube *b*. Identique au précédent, sauf que le sérum de cobaye neuf est remplacé par une dose égale de l'antisérum cobaye-lapin 56°.

Tubes *c* et *d*. Respectivement identiques aux précédents, sauf que le sang sensibilisé est remplacé par du sang non sensibilisé.

Une heure après, on ajoute aux quatre tubes 1/10 de centimètre cube d'alexine (sérum très frais de cobaye neuf). En deux ou trois minutes, l'hémolyse s'effectue dans le tube *a*; elle n'apparaît pas dans les autres. On agite de temps à autre, et au bout d'environ cinq heures, on centrifuge. On reporte dans de nouveaux tubes les liquides limpides décantés, et l'on ajoute à chacun d'eux 4/10 de centimètre cube d'un mélange composé d'une partie de sang de bœuf lavé et de deux parties de sérum lapin-bœuf 56°¹.

Ces nouveaux globules sensibilisés s'hémolysent rapidement (en quelques minutes) sauf dans le liquide provenant du tube *a*, où ils restent intacts². Il résulte de l'expérience que l'antisérum entière aux globules sensibilisés *le pouvoir de fixer l'alexine*; ceux-ci se comportent désormais, à ce point de vue, comme des globules normaux.

E.) L'antisensibilisatrice chasse-t-elle, par une sorte de lavage, la sensibilisatrice hors du globule, ou bien *se soutient-elle à la sensibilisatrice fixée elle-même sur le globule*?

Nous avons vu plus haut que si l'on introduit dans de l'antisérum un volume suffisant de globules sensibilisés, le liquide devient inactif. Mais on pourrait supposer que l'antisensibilisatrice expulse du globule la sensibilisatrice, et que si l'antisérum se montre désormais inerte, c'est qu'il contient les deux substances antagonistes à l'état de saturation mutuelle.

Prenons 1/10 de centimètre cube de sang sensibilisé de bœuf (préparé comme il a été dit dans la première expérience). Ajoutons 3/10 de centimètre cube d'antisérum. Après quelque

1. Le sérum sensibilisateur, étant introduit ainsi en quantité assez considérable, ne saurait être neutralisé dans le tube provenant de *b*, même si l'antisensibilisatrice de celui-ci n'ayait pas été entièrement consommée.

2. Il suffit, bien entendu d'ajouter ultérieurement à ce liquide un peu d'alexine pour que l'hémolyse y apparaisse.

temps de contact, lavons soigneusement à la solution physiologique. Après centrifugation et décantation, délayons le sédiment de globules dans 3/10 de centimètre cube de sérum de cobaye neuf 56°, et ajoutons l'alexine (1/10 de centimètre cube); l'hémolyse n'apparaît pas. La sensibilisatrice dont les hématies s'étaient chargées a-t-elle été chassée par l'antisérum et éliminée ensuite grâce au lavage? Pour le savoir, ajoutons au mélange 1/10 de centimètre cube de sérum de lapin neuf 56°¹. Nous constatons que cette addition provoque bientôt (parfois en quelques minutes) l'hémolyse, qui sans cette nouvelle intervention ne se serait jamais opérée. Et cependant, des essais complémentaires établissent que ce sérum de lapin neuf est totalement incapable de sensibiliser par lui-même les hématies de bœuf à l'action de l'alexine. Il faut donc bien admettre que la sensibilisatrice s'est maintenue sur le globule, que l'antisensibilisatrice s'est fixée sur elle, mais ne l'a point chassée, et que le sérum de lapin neuf contient un principe (sensibilisatrice normale?) susceptible de décomposer la combinaison de la sensibilisatrice spécifique avec l'antisensibilisatrice, en déplaçant la première substance pour s'emparer de la seconde. Et si le sérum de lapin neuf, dans ces conditions, sensibilise, il ne le fait qu'indirectement, en faisant réapparaître la sensibilisatrice spécifique précédemment neutralisée.

Nous reviendrons sur cette expérience à propos d'autres questions, notamment à propos de la multiplicité des substances actives dans un même immunisérum. Notons toutefois dès à présent que ce phénomène, que l'on pourrait qualifier de suppression, par le sérum de lapin neuf 56°, de la guérison des globules réalisée par l'antisérum, s'effectue avec une rapidité qui varie un peu suivant les conditions de l'expérience. Nous avons remarqué que la réapparition de la sensibilisation sous l'influence d'une addition de sérum de lapin neuf 56° (au mélange globules sensibilisés-antisérum-alexine) s'opère plus difficilement et plus lentement si le contact des hématies et de l'antisérum, avant l'introduction du sérum de lapin neuf, a été prolongé pendant plusieurs heures, que si ce contact a duré moins longtemps. Il semble, en d'autres

1. Rappelons que notre antiserum a été obtenu par injection à des cobayes de sérum de lapin neuf.

termes (à vrai dire, nous nous réservons de faire bientôt à ce sujet des expériences plus complètes), que la combinaison anti-sensibilisatrice-sensibilisatrice spécifique se consolide en quelque sorte par le temps, et devienne ainsi moins apte à se laisser toucher par les sensibilisatrices normales du serum de lapin neuf. D'autre part, la combinaison paraît aussi plus stable, plus solide (et moins attaquant par ce dernier serum employé même à forte dose), si l'antisérum est très puissant.

Que le serum de lapin neuf contienne des substances douées d'affinité pour l'antisensibilisatrice, le fait n'a rien de surprenant. Nous avons fait voir en 1899 qu'on peut déceler, dans un serum neuf, des matières fort comparables aux sensibilisatrices¹, et MM. Ehrlich et Morgenroth ont fait connaître de nombreux exemples analogues. Aussi est-il (en présence de ces raisons et surtout de l'expérience que nous venons de relater) presque superflu de dire que si l'on ajoute tout d'abord du serum de lapin 56° à de l'antisérum, celui-ci perd le pouvoir de protéger des globules sensibilisés contre l'influence de l'alexine. Cela va de soi, puisque dans le cas même où les globules ont été déjà guéris par l'antisérum, l'addition de serum de lapin neuf peut supprimer la protection que l'antisérum avait accordée.

Un autre fait, qui résulte encore de l'évidence de ce qui précède, c'est que des globules sensibilisés de bœuf, guéris par l'antisérum, puis lavés, et qui résistent si bien à l'alexine de cobaye ou d'homme, se détruisent quand on les transporte dans l'alexine de lapin, le serum de cet animal rétablissant la sensibilisation.

Le pouvoir de faire disparaître la guérison des globules opérée par l'antisérum se retrouve-t-il dans le serum de lapin neuf, chauffé à des températures dépassant notablement 56°? Oui, si le serum a été chauffé à 70° pendant une demi-heure. Non, si l'on éprouve le liquide exprimé d'un caillot de serum coagulé à 100°. D'autre part, ce pouvoir ne se retrouve pas ou n'est que faiblement développé dans l'humeur aqueuse de lapin

1: Elles appartiennent à la même catégorie de substances, mais elles semblent (sauf dans certains cas assez exceptionnels) fort inférieures aux sensibilisatrices spécifiques au point de vue de l'énergie des affinités qu'elles manifestent à l'égard des éléments sensibles. Au surplus, elles sont mal connues et ce n'est qu'avec certaines réserves qu'il convient de leur donner ce nom de sensibilisatrices normales.

neuf (chauffée à 56°). S'il est dû, ce qui est bien vraisemblable, à des sensibilisatrices normales, celles-ci n'existent pas dans ce liquide, ou y sont très rares. Ce fait est en parfaite harmonie avec les résultats expérimentaux que nous avons communiqués en 1893, dans le mémoire (*ces Annales*) où nous avons pu démontrer que le pouvoir bactéricide du cholerasérum est dû à la collaboration de deux substances bien distinctes, l'une spécifique, résistant à la chaleur, propre au sérum des vaccinés (matière préventive ou sensibilisatrice); l'autre, l'alexine ou matière bactéricide proprement dite, destructible à 35°, non spécifique, répandue en quantité approximativement égale dans le sérum des neufs et dans celui des vaccinés, — la première de ces substances préparant le microbe à l'action de la seconde. L'expérience déjà ancienne dont il s'agit consistait à mélanger de l'humeur aqueuse chauffée à 56° d'animal immunisé contre le vibron cholérique, du sérum frais d'animal neuf quelconque et des vibrios; la bactéryolyse ne se produisait pas tandis qu'elle s'opérait énergiquement si le mélange contenait, au lieu d'humeur aqueuse, du sérum (chauffé à 56°) provenant du même animal. L'humeur aquense est donc dépourvue de sensibilisatrice.

F.) Lorsqu'on observe qu'un même antisérum, celui que nous étudions par exemple, neutralise plusieurs sensibilisatrices spécifiques provenant d'animaux qui, bien entendu, appartiennent à la même espèce, mais qui ont été immunisés contre des éléments microbiens ou cellulaires différents, doit-on conclure que cet antisérum contient plusieurs antisensibilisatrices également différentes, respectivement combinables à chacune des diverses sensibilisatrices considérées? Ou bien faut-il admettre que l'antisérum ne renferme qu'une seule antisensibilisatrice, capable de neutraliser, sans préférence spéciale, ces sensibilisatrices différentes?

A vrai dire, cette question, sans avoir fait l'objet de recherches expérimentales directes, semble avoir reçu déjà, de la part de MM. Wassermann¹ et Ford², une réponse assez nette, à propos d'un autre problème. Ces savants se sont proposé d'élucider le point suivant: Dans bien des cas, on le sait, le

1. *Zeitschrift für Hygiene*, t. XLII, p. 267, 1903.

2. *Idem*, t. XL, p. 363, 1902.

sérum d'un animal neuf possède, avant toute vaccination, un pouvoir agglutinant¹ bien constatable, s'exerçant par exemple envers un globule d'espèce A. Mais si l'on immunise cet animal contre le globule A, l'agglutinine spécifique, qui se développe bientôt avec activité, doit-elle être considérée comme identique à celle que l'on trouvait déjà, avant le traitement, dans le sérum normal? Bref, l'immunisation se borne-t-elle simplement à exagérer beaucoup la production d'un principe qui préexistait (au moins à faible dose), sans créer à proprement parler de substances nouvelles et particulières? S'il en était ainsi, l'immunisation ne se signalerait que par une modification purement quantitative.

Or, MM. Wassermann et Ford ont pensé que le fait (observé par M. Ford) que nous avons rappelé plus haut, suffit à éclaircir ce point obscur et démontre avec une parfaite évidence l'identité des anticorps actifs sur le même élément, mais qui se rencontrent respectivement dans le sérum des animaux neufs et dans celui des vaccinés contre cet élément. Le fait, répétons-le, c'est que des poules vaccinées contre le sérum de lapin neuf donnent un antisérum neutralisant l'influence agglutinante qu'exercent sur les hématies de poule, d'une part, le sérum de lapin neuf; d'autre part, celui de lapins immunisés contre ces mêmes globules. Et la conclusion est la suivante : si l'antisérum obtenu grâce à l'injection de l'agglutinine normale neutralise aussi l'immunagglutinine, c'est que la seconde agglutinine est identique à la première.

A vrai dire, nous ne concevons point pourquoi MM. Wassermann et Ford considèrent ce raisonnement comme fondé. Il ne serait valable que si l'on avait acquis, au préalable, la certitude qu'une antiagglutinine (ou antisensibilisatrice) unique ne peut, en aucun cas, neutraliser plusieurs agglutinines (ou sensibilisatrices) différentes. Mais MM. Wasserman et Ford n'ont rien démontré de pareil. Pourquoi, dès lors, si nous formulions tout d'abord l'hypothèse contraire, — à savoir qu'une seule et même antiagglutinine (ou antisensibilisatrice) paralyse indifférem-

1. Il s'agit, il est vrai, dans l'exemple de MM. Wassermann et Ford, non de sensibilisatrices; mais d'agglutinines. Mais ce n'est pas dépasser les bornes de la vraisemblance que d'appliquer aux sensibilisatrices des résultats obtenus à propos d'agglutinines, et d'étendre par conséquent aux antisensibilisatrices des conclusions relatives aux antiagglutinines.

ment, sans manifester de spécificité stricte, toutes les agglutinines (ou sensibilisatrices) diverses qu'une même espèce animale est susceptible d'élaborer, — pourquoi ne pourrions-nous pas admettre que les deux agglutinines en question, actives sur le globule de poule (celle du sérum de lapin neuf, celle de l'immunsérum), ne sont pas complètement identiques, présentent entre elles certaines différences comparables, par exemple (ceci n'est qu'une comparaison), à celles qui séparent l'une de l'autre deux immunagglutinines provenant de la même espèce, mais impressionnant des globules différents? Pourquoi en effet devrions-nous accepter sans contrôle cette thèse, que MM. Wassermann et Ford semblent considérer comme un axiome, qu'à chaque substance active correspond régulièrement un anticorps spécifique, strictement et exclusivement approprié, ou que, ce qui revient au même, l'identité de deux substances résulte nécessairement du fait qu'elles sont neutralisées par le même anticorps? Pourquoi serions-nous finalement, en raison de l'expérience de M. Ford, forcés d'accueillir cette notion que l'immunisation se borne à augmenter dans l'organisme la dose d'une matière active, sans la changer en rien au point de vue qualitatif? On le voit, il est indispensable, avant d'admettre la conclusion de MM. Wassermann et Ford (dont l'importance relativement à la genèse des matières actives des immunsérum: est évidente) de traiter tout d'abord la question F posée plus haut. Or (les expériences qui suivent le démontrent) une même antisensibilisatrice peut neutraliser des sensibilisatrices qui sont différentes, qui le sont même nettement, car elles impressionnent des éléments différents.

Quand on mélange à notre antisérum des globules de bœuf chargés (par absorption spécifique suivie de lavage) de sensibilisatrice lapin-bœuf, l'antisensibilisatrice, nous le savons, se consomme en guérissant les hématies sensibilisées, de telle sorte que le liquide surnageant, décanté après centrifugation, ne protégera-t-il pas davantage des globules différents des premiers, chargés d'une autre sensibilisatrice, par exemple des globules de poule traités par du sérum lapin-poule? L'expérience, dont le détail suit, répond négativement. La même antisensibilisatrice neutralise donc deux sensibilisatrices différentes (lapin-bœuf et lapin-poule). On démontre en même temps, bien entendu,

d'abord que des globules de bœuf traités par la sensibilisatrice lapin-poule (ce qu'ils ne fixent pas) ne font pas disparaître, dans l'antisérum, le pouvoir de protéger ultérieurement des hématies sensibilisées de poule ou de bœuf; — ensuite, que le sérum lapin-bœuf n'est pas sensibilisateur à l'égard des globules de poule.

Du sang de bœuf préalablement lavé (et dont la richesse en globules est sensiblement égale à celle du sang déshiriné primitif) est réparti dans 2 larges tubes, à dose de 1, 5 centimètre cube, et additionné de deux volumes (3 c. c.) soit de sérum lapin-bœuf 56°, soit de sérum lapin-poule 56°. On lave (remplissage des tubes par l'eau physiologique, centrifugation décantation), et l'on ajoute aux sédiments de globules 1, 5 centimètre cube d'eau physiologique. L'un des sanguins obtenus est donc sensibilisé, l'autre ne l'est pas.

De même, on prépare du sang de poule sensibilisé ou non, en suivant une technique identique, en soumettant donc les hématies à l'action soit de sérum lapin-poule 56°, soit de sérum lapin-bœuf 56°.

D'autre part, on dilue, pour diminuer son activité et le rendre ainsi plus maniable, de l'antisérum dans volume égal de sérum de cobaye neuf 56°. Appelons ce mélange antisérum dilué. Préparons alors les mélanges suivants, dans lesquels l'antisérum se trouve en présence de fortes doses des 2 sanguins que nous venons d'obtenir :

Tube A. On y met 1 c. c. de sang de bœuf sensibilisé, et 2, 5 c. c., d'antisérum dilué.

Tube B. Identique au précédent, sauf que le sang n'est pas sensibilisé (c'est celui qui a été traité par le sérum lapin-poule).

Au bout d'une heure, on centrifuge et on décantera les liquides surnageants A et B, dont le premier, nous pouvons le prévoir, est dépouillé d'antisensibilisatrice. Ils servent à la confection des mélanges suivants :

Tubes C et D. Tous deux reçoivent 1 c. c. de liquide A; on ajoute, en outre, à C une petite quantité (1/10 de centimètre

1. Disons en passant que 4 parties de cet antisérum protègent complètement, contre l'addition ultérieure d'alexine, une partie environ du sang sensibilisé employé dans l'expérience. Dans le tube de contrôle où l'antisérum est remplacé par du sérum de cobaye neuf 56°, l'hémolyse n'exige que 5 minutes.

cube) de sang de bœuf sensibilisé, à D la même dose de sang de poule sensibilisé.

Tubes E et F. Même composition respectivement que les tubes C et D, sauf qu'au lieu d'y mettre du liquide A, on y verse du liquide B.

On prépare encore des mélanges témoins, contenant 1 c. c. de sérum de cobaye neuf 56°, et 1/10 de centimètre cube de sang sensibilisé de poule ou de bœuf, ou bien encore offrant la même composition, sauf que les globules ne sont pas sensibilisés. Ce sont les témoins sans antisérum.

On attend environ 3/4 d'heure, puis on ajoute aux tubes C, D, E, F, et aux témoins, 2/10 de centimètre cube d'alexine (sérum frais de cobaye neuf).

On constate qu'aucune hémolyse, soit des globules de bœuf, soit des globules de poule, ne survient dans les tubes E et F, qui contiennent du liquide B, c'est-à-dire de l'antisérum qui (n'ayant été en contact antérieurement qu'avec des globules de bœuf non sensibilisés) n'a pas été privé de son pouvoir antisensibilisateur. Pas d'hémolyse non plus, cela va de soi, dans les témoins sans antisérum contenant des globules non sensibilisés. Au contraire, dans les tubes C et D, renfermant le liquide A (dont l'antisensibilisatrice a été au préalable consommée par les globules de bœuf sensibilisés), l'hémolyse des globules de poule ou de bœuf s'effectue très vite, tout aussi rapidement que dans les témoins sans antisérum, contenant des globules sensibilisés identiques. La même antisensibilisatrice neutralise donc les deux sensibilisatrices employées, lesquelles sont nettement différentes, puisque l'une, spécifiquement appropriée aux globules de bœuf, est combinable à ceux-ci, tandis que l'autre ne l'est pas.

Au surplus, cette expérience n'était même pas indispensable, car la conclusion qu'elle comporte se dégage, avec une entière évidence, d'un autre fait, relatif aux propriétés du sérum de lapin neuf. Nous avons vu plus haut que, lorsqu'on ajoute à un mélange de globules sensibilisés, d'antisérum et d'alexine (dans lequel les hématoïdes sont restées intactes, la sensibilisatrice ayant été annihilée) un peu de sérum de lapin neuf 56°, l'hémolyse apparaît; on doit admettre que ce dernier sérum renferme une substance capable de déplacer, au moins partiellement, la sensi-

bilisatrice spécifique en s'emparant de l'antitoxine. Que cette substance ne doive pas être considérée comme étant de la sensibilisatrice lapin-bœuf, qui préexisterait en certaine dose dans le sérum des lapins neufs, cela résulte déjà du fait que ce dernier ne rend nullement les globules de bœuf plus sensibles à l'influence alexique. Mais, pour en être plus sûr, et éliminer toute objection, recherchons si le sérum de lapin neuf se comporte encore de même lorsqu'au préalable on le traite par un grand excès de sang de bœuf.

Versons dans un large tube 1 c. c. de sang désébriné de bœuf; remplissons d'eau physiologique, centrifugeons et aspirons tout le liquide, en ne laissant que le culot de globules, que nous délayons ensuite dans 1 c. c. de sérum de lapin neuf 56°. Le lendemain, centrifugeons cette émulsion, séparons le sérum surnageant et versons-le sur un nouveau sédiment de globules préparé comme le précédent aux dépens de 1 c. c. de sang de bœuf. On peut espérer qu'à la faveur de ces deux contacts successifs, les globules auront absorbé, dans le sérum neuf, ce qui leur est combinable. D'autre part, on se procure du sang de bœuf sensibilisé et lavé (semblable à celui de la 1^{re} expérience).

A deux tubes A et B contenant tous deux 1/10 de centimètre cube de sang sensibilisé lavé et 3/10 de centimètre cube d'antisérum, on ajoute tout d'abord 1/10 de centimètre cube d'alexine de cobaye; on additionne ensuite le tube A de 2/10 de centimètre cube de sérum de lapin neuf traité comme il a été dit. Les globules s'hémolysent en une dizaine de minutes dans le tube A. Ils restent intacts dans le tube B. Un témoin montre que l'introduction du sérum neuf ne produit aucune hémolyse dans un mélange en mêmes proportions de globules non sensibilisés, d'antisérum et d'alexine.

On peut réaliser une expérience identique en se servant, au lieu de sérum de lapin neuf, de sérum de lapin-bœuf préalablement dépourvu (ainsi que le montrent des mélanges témoins) de toute activité spécifique grâce à deux contacts successifs avec des globules de bœuf. Le résultat est le même que pour le sérum de lapin neuf. Le sérum de lapin-bœuf se combine donc encore avec l'antisensibilisatrice, même s'il a été entièrement dépouillé de tout pouvoir sensibilisateur spécifique à l'égard des globules de bœuf; si, en d'autres termes, il ne contient plus que des

sensibilisatrices normales n'ayant pas d'affinité spéciale pour ces hématies.

On ne peut donc pas, comme le font MM. Wassermann et Ford, admettre sans autres preuves que deux sensibilisatrices (ou agglutinines) sont identiques parce qu'elles sont neutralisées par le même anticorps. La conclusion de ces savants relative à l'identité des agglutinines, actives sur le même globule, mais dont l'une existe déjà chez les neufs tandis que l'autre est obtenue par immunisation, ne découle pas de leurs expériences. Elle est peut-être exacte, mais rien jusqu'ici n'en démontre le bien-fondé.

La réponse à la question F est donc qu'une seule et même antisensibilatrice peut neutraliser plusieurs sensibilisatrices provenant de la même espèce animale, mais agissant spécifiquement sur des éléments différents. Si, d'autre part, on tient compte de ce fait, noté déjà par plusieurs observateurs (Ehrlich et Morgenroth, Pfeiffer et Friedberger), qu'un antisérum obtenu par injection à un animal A d'un sérum d'espèce B n'agit pas sur (ou n'impressionne que rarement et faiblement) les sensibilisatrices fournies par des espèces C ou D, la conclusion doit être qu'au point de vue de l'influence de l'antisensibilatrice, il y a plus de parenté entre des sensibilisatrices de provenance commune, mais actives à l'égard d'éléments différents, qu'entre des sensibilisatrices actives sur le même élément, mais qui ont été élaborées par des organismes divers.

II

OBSERVATIONS CONCERNANT LES THÉORIES CHIMIQUES DE L'IMMUNITÉ.

L'étude des antisensibilisatrices suggère diverses remarques sur lesquelles nous croyons devoir attirer l'attention; elles nous paraissent en effet susceptibles de faciliter la compréhension de certains faits insuffisamment expliqués ou qui ont été l'objet d'interprétations parfois inexactes ou prématuées. Nous émet-

1. Insistons encore sur ce fait que, lorsque nous donnons à ces substances du sérum neuf le nom de sensibilisatrices normales, cette désignation assez conventionnelle signifie simplement que ces matières peuvent, comme les sensibilisatrices spécifiques, se combiner à l'antisensibilatrice. Mais nous ne savons pas grand' chose relativement à leur nature et à leurs autres propriétés. Et si nous leur donnons un nom précis, c'est plutôt pour faciliter le langage.

trons donc quelques observations relatives, d'abord à la théorie d'Ehrlich, ensuite au mécanisme de l'immunité passive.

Il est un troisième point toutefois qu'il serait utile également de considérer de plus près : c'est la question du mode d'action des antitoxines sur les toxines, pour laquelle l'étude des antisensibilisatrices semble devoir apporter des renseignements intéressants. En effet, grâce à cette propriété que les globules possèdent d'extraire électivement, du sérum hémolytique 56° la sensibilisatrice spécifique qui leur est appropriée, on peut facilement, nous l'avons vu, épurer la solution toxique, isoler en d'autres termes la seule toxine que l'on désire soumettre à l'influence antitoxique. D'autre part, le fait que les sensibilisatrices normales du sérum de lapin neuf (non toxiques pour les globules, mais douées néanmoins pour l'antitoxine d'une affinité très comparable à celle que manifeste la toxine véritable ou sensibilisatrice spécifique), ajoutées à la toxine déjà neutralisée (globules sensibilisés + antiserum), font réapparaître celle-ci en s'emparant d'une certaine dose d'antitoxine, permettra, on peut l'espérer, de déterminer suivant quelle loi s'établit l'équilibre entre les substances antagonistes. Mais nos recherches à ce sujet n'étant pas terminées, nous ne discuterons point, dans le présent mémoire, les théories qui concernent la réaction des antitoxines sur les toxines. Nous nous bornerons pour le moment à signaler un fait tendant à faire admettre que l'annihilation d'une toxine par une antitoxine est rarement absolue, — soit que la réaction ne s'opère jamais complètement, le mélange contenant toujours des traces de toxine libre (Arrhenius et Madsen), soit que, comme nous l'avons supposé, la neutralisation d'une toxine par une antitoxine n'est en réalité qu'une atténuation, qui peut être plus ou moins prononcée, suivant que la toxine a fixé plus ou moins d'antitoxine. D'après notre hypothèse en effet, les deux substances s'unissent en proportions variabiles, peuvent donc fournir, entre ces deux termes extrêmes, toxine libre, toxine entièrement saturée, toute une série de composés intermédiaires dont la richesse en l'une ou l'autre matière dépend des proportions relatives employées pour constituer le mélange, et dont la toxicité baisse (sans devoir nécessairement se réduire à zéro) au fur et à mesure qu'ils renferment plus d'antitoxine. On le sait, les toxones d'Ehrlich (dont on constate

L'apparition lorsqu'on mélange à de la toxine une dose d'antitoxine qui ne suffit pas à réaliser la neutralisation complète) représentent simplement, pour Arrhenius et Madsen, une petite quantité de toxine libre; pour nous, elles consistent en molécules toxiques insuffisamment saturées d'antitoxine et dont corrélativement la toxicité n'est qu'affaiblie sans être détruite. Or, il semble bien que nous assistons, lorsque nous mélangeons l'antisérum et la sensibilisatrice, à la formation de toxones dérivant réellement de la toxine elle-même, en ce sens que sous l'influence de l'antisérum, la sensibilisatrice ne subit qu'une diminution et non une abolition complète de son énergie primitive. La sensibilisation, nous le savons, est très affaiblie, et c'est pourquoi les globules restent intacts dans les conditions ordinaires des expériences, c'est-à-dire quand'ils baignent dans un milieu de composition convenablement appropriée (sérum). Mais elle n'est pas, comme on va le voir, totalement annulée, car elle se trahit encore lorsque les globules sont rendus plus vulnérables par le séjour dans un liquide moins favorable à leur conservation (solution physiologique), lorsque, en d'autres termes, les conditions de milieu sont de nature à faciliter la manifestation du pouvoir sensibilisateur. En pareil cas, la protection accordée par l'antisérum est inefficace; elle est impuissante à empêcher l'hémolyse.

Ajoutons à 2/10 de centimètre cube de sang de bœuf sensibilisé (en émulsion assez diluée dans l'eau physiologique), de l'antisérum en dose (6/10 de centimètre cube) notablement supérieure à celle qui suffit habituellement à protéger les hématies. Remplissons ensuite d'eau physiologique, centrifugeons et décantons tout le liquide. Au sédiment de globules, ajoutons 6/10 de centimètre cube de sérum de cobaye neuf 56°, puis 2/10 de centimètre cube d'alexine de cobaye. Dans ces conditions, nous le savons, les globules sont encore intacts le lendemain. Réalisons d'autre part la même expérience, avec cette variante qu'après le lavage, nous ajoutons au sédiment, au lieu de 6/10 de centimètre cube de sérum de cobaye neuf 56°, 6/10 de centimètre cube de solution physiologique de NaCl (à 7,5 ou même 9,0%) ; introduisons ensuite 2/10 de centimètre cube d'alexine. Nous constatons que l'hémolyse s'effectue avec une certaine lenteur, il est vrai, mais est complète au

Éout d'une heure environ¹. La guérison des globules n'était donc que relative; la sensibilisation, simplement atténuée, produit encore ses effets si les globules sont maintenus dans un milieu défectueux diminuant leur résistance².

Ne peut-on pas comparer ce fait avec celui que MM. Roux et Vaillard ont observé il y a longtemps déjà, et d'après lequel un mélange de toxine et d'antitoxine tétaniques, intensif pour des cobayes normaux, était dangereux pour des cobayes débilités antérieurement par la vaccination contre le vibron cœclérique?

Sans insister davantage, pour le moment, sur ces questions, revenons au sujet proprement dit du présent chapitre.

Théorie d'Ehrlich. — Relative à l'origine des anticorps, elle consiste, on le sait, en ceci: quand on injecte à un animal une substance dont l'inoculation est susceptible de déterminer la production d'un anticorps, cette substance se scoude à certains éléments chimiques (récepteurs) appartenant à des cellules déterminées. Celles-ci, troublées, réagissent. Pour rétablir l'intégrité constante de leur constitution, elles élaborent de nouveaux récepteurs, lesquels, reproduits en abondance exagérée (la réaction étant trop intense), quittent la cellule et se déversent dans les humeurs, où ils constituent l'anticorps caractérisant le serum obtenu.

La théorie fournit donc une recette commode pour découvrir la nature des anticorps. Appliquons-la à l'antisensibilisatrice qui, dans nos expériences, neutralise notamment la sensibilisatrice lapin-bœuf. Quand on immunise des cobayes contre le serum de lapin neuf, il faut supposer, d'après la théorie, que les cobayes possèdent des récepteurs capables (comme ceux qu'on trouve dans les globules de bœuf) de se combiner à certains principes actifs (sensibilisatrices normales) du serum neuf de lapin. Les récepteurs, atteints par l'injection, sont ultérieurement, grâce à la réaction cellulaire, reproduits avec activité, et l'excès se répand dans le serum auquel il confère la propriété de

1. On s'assure de ce que des globules traités de la même manière, mais non sensibilisés, ne s'altèrent pas. On sait d'autre part que le serum de cobaye neuf⁵⁶ n'est pas antisensibilisateur.

2. Que l'eau physiologique rende les globules peu sensibles à l'action de traces de serum hémolytique, c'est un fait couramment observé par les expérimentateurs.

7 neutraliser la sensibilisatrice spécifique lapin-bœuf. En conséquence, l'antisensibilisatrice est constituée de récepteurs identiques ou très analogues à ceux qui dans le globule de bœuf se combinent à la sensibilisatrice¹. Elle doit donc se comporter comme ces derniers, puisqu'elle n'est, si l'on peut s'exprimer ainsi, qu'une solution dans le sérum de semblables récepteurs. Cette constitution de l'antisensibilisatrice est au surplus bien celle que M. Morgenroth a récemment acceptée.

Or, l'inexactitude de cette conception, issue de la théorie d'Ehrlich, ressort à l'évidence des faits que nous avons signalés dans le présent article. Tout d'abord, si l'antisensibilisatrice était identique aux récepteurs de globules (de bœuf par exemple) intervenant dans les expériences, elle ne se combinerait pas à la sensibilisatrice déjà saturée de ces récepteurs, c'est-à-dire déjà fixée sur les globules. Et la guérison, par l'antisérum, des globules sensibilisés, serait impossible.

D'autre part, si l'antisensibilisatrice était identique aux récepteurs dont il s'agit, il est clair que toute substance capable de se combiner à elle s'unirait aussi, de la même façon, aux globules de bœuf. Or, le sérum neuf de lapin contient des matières qui ne sont point combinables aux récepteurs des globules de bœuf (en effet, ceux-ci n'en dépouillent aucunement le liquide) et qui pourtant sont tellement avides d'antisensibilisatrice qu'elles peuvent la disputer avec succès à la sensibilisatrice lapin-bœuf. De même, le sérum lapin-bœuf, complètement dépouillé au préalable de sa sensibilisatrice spécifique à l'égard des globules de bœuf, sature encore l'antisensibilisatrice. Bien plus, que la même antisensibilisatrice sature indifféremment diverses sensibilisatrices, dont l'une est combinable aux globules de bœuf, tandis que les autres ne le sont pas, c'est ce qui résulte encore de l'expérience où nous montrons que l'antisérum, traité par des globules de bœuf chargés de leur sensibilisatrice appropriée, ne protège plus désormais d'autres globules d'espèce différente, impressionnés par une sensibilisatrice différente de la première.

La théorie que nous discutons est encore en opposition directe avec le fait que l'antisérum enlève aux globules sensibili-

1. Selon la terminologie de M. Ehrlich, tous ces récepteurs doivent avoir le même groupement haptophore.

lisés le pouvoir d'absorber l'alexine. Il est clair que si l'antisensibilisatrice était formée de récepteurs de globules, sa combinaison avec la sensibilisatrice devrait, au même titre que celle de cette dernière substance avec le globule, s'emparer énergiquement de l'alexine présente. Et c'est le contraire qu'on observe.

En résumé, les faits suivants : 1^o l'antisensibilisatrice s'unit à la sensibilisatrice déjà fixée sur les globules appropriés et guérit ainsi ces derniers ; 2^o l'antisérum doit son activité à une seule et même substance, conférant à cet antisérum le pouvoir de protéger des éléments sensibilisés différents, c'est-à-dire de neutraliser des sensibilisatrices différentes et qui en conséquence sont respectivement combinables à des récepteurs différents ; par exemple, la même antisensibilisatrice se combine non seulement à la sensibilisatrice lapin-bœuf mais aussi à d'autres sensibilisatrices (normales ou spécifiques) incapables de s'unir aux hématies de bœuf ; 3^o l'antisérum enlève aux globules sensibilisés le pouvoir d'absorber l'alexine, — ces divers faits nous paraissent formellement inconciliables avec la théorie d'Ehrlich, et contribuent à démontrer qu'en théorie générale, *les antitoxines (ou autres anticorps) ne sauraient être assimilées aux récepteurs qui fixent les poisons*. Nous les considérons toutes (qu'elles agissent contre les poisons microbiens, végétaux ou animaux) comme *des substances de même ordre, d'origine cellulaire commune*, appartenant à la même catégorie de matières, offrant les unes avec les autres des liens étroits de parenté. Et si la théorie des récepteurs était vraie, *aucune analogie* n'unirait entre elles les diverses antitoxines, car — on peut raisonnablement l'admettre, semble-t-il, — les récepteurs atteints par les diverses toxines, microbiennes, animales ou végétales, doivent être bien différents suivant la nature et les propriétés de chacun de ces poisons !

MM. Ehrlich et Morgenroth ont consacré à l'étude des antisensibilisatrices la plus grande partie d'un mémoire¹ dont l'importance, pour les partisans de la théorie des chaînes laté-

1. Si nous pouvions accepter les notions défendues par M. Ehrlich et son école notamment que la sensibilisatrice se combine avec l'alexine et qu'en d'autre part chacune des propriétés qu'une substance peut manifester est représentée dans la molécule par un groupement particulier), nous dirions que l'antisensibilisatrice ne devrait s'unir qu'au groupement cytophile de la sensibilisatrice et non pas à son groupement complémentophile. C'est ce que l'expérience dément.

2. Ueber Haemolyse VI Mittheilung. *Berliner Klin. Wochenschrift*, 1901, nos 21-22.

rales, est essentielle. Cet article, en effet, est l'un de ceux qui ont le plus contribué à propager cette conception et qui ont paru fournir, en sa faveur, les arguments les plus convaincants. Les données qu'il renferme sont d'ailleurs en opposition formelle avec les nôtres et nous devons les discuter. Mais nous envisagerons tout d'abord un travail récemment publié par M. Morgenroth¹.

On connaît l'hypothèse de la « déviation du complément » (Komplementablenkung), formulée à propos des constatations de MM. Neisser et Wechsberg relativement à l'influence empêchante qu'exerce, sur le phénomène de la bactériolyse (lorsque la dose d'alexine ajoutée aux microbes est assez faible), l'intervention d'une quantité trop forte de sensibilisatrice. Il a été admis — sans démonstration directe, — que, les microbes ne pouvant absorber entièrement la forte dose de sensibilisatrice mise en jeu, l'excès de cette matière qui persiste dans le liquide s'unit à l'alexine, en accapare ainsi une part plus ou moins importante, laquelle ne peut dès lors atteindre les microbes. Mais, chose assez singulière, ce rôle empêchant d'un excès de sensibilisatrice n'avait pu être constaté dans les expériences d'hémolyse, et M. Morgenroth s'est efforcé de combler cette lacune fâcheuse pour la théorie. Il admet tout d'abord que les sensibilisatrices hémotoxiques ont besoin, pour manifester beaucoup d'affinité à l'égard de l'alexine, de s'être au préalable combinées aux récepteurs des globules appropriés². Par conséquent, dans un mélange de globules, d'alexine et d'une dose trop forte de sensibilisatrice, l'excès de cette dernière substance, qui reste à l'état libre dans le liquide, ne peut s'emparer d'aucune portion d'alexine, car il exige, pour se montrer avide de complément, qu'on mette à sa disposition des récepteurs de globules. L'introduction de ceux-ci est nécessaire pour que la déviation du complément (alexine) se manifeste. Or, partant de cette idée (conforme à la théorie des chaînes latérales) que l'antisensibilisa-

1. Komplementablenkung durch hämolytische Amboxyptoren. *Centralblatt für Bakteriologie*. Orig., t. xxxv, p. 501, 1904.

2. On peut se demander pourquoi les sensibilisatrices antimicrobiennes ne ressentent pas, au même degré, le même besoin. Il est certain que si l'expérience avait montré l'inverse, c'est-à-dire que le phénomène de la déviation du complément se constate pour l'hémolyse et non pour la bactériolyse, l'explication n'en aurait pas souffert : il eût suffi de la retourner.

trice est identique aux récepteurs de globules au point de vue de ses affinités (possède un groupement haptophore identique à celui des globules). M. Morgenroth a prévu qu'un mélange de sensibilisatrice et d'antisensibilisatrice devait pouvoir fixer une certaine quantité d'alexine, devait en d'autres termes se comporter exactement comme un mélange de sensibilisatrice et de globules, lequel, ainsi que nous l'avons montré⁴, absorbe l'alexine avec beaucoup d'énergie. Il est clair que si l'on identifie ces deux éléments : récepteurs de globules, antisensibilisatrice, l'introduction, soit de l'un, soit de l'autre, dans un mélange de sensibilisatrice et d'alexine, doit provoquer, de la même façon, la consommation (fixation) d'une certaine portion de cette matière active, et diminuer en conséquence la force hémolytique du liquide. Des globules sensibilisés, ultérieurement employés comme réactifs de l'énergie destructive, auront donc moins de chances de s'hémolyser si on les introduit dans un mélange d'alexine, d'antisensibilisatrice et de sensibilisatrice, que si on les plonge dans une mixture contenant en mêmes proportions l'antisensibilisatrice et l'alexine, mais ne enfermant pas de sensibilisatrice. La cause de cette différence réside naturellement en ce que, dans le premier cas, une partie de l'alexine aura été déjà consommée par le complexe « sensibilisatrice-antisensibilisatrice », lequel fonctionne exactement comme le ferait le complexe « sensibilisatrice-globules » puisque, d'après M. Morgenroth, les termes antisensibilisatrice et récepteurs de globules sont synonymes.

Or, l'expérience a confirmé les prévisions de M. Morgenroth. On peut, en mélangeant (suivant des proportions soigneusement calculées) de l'alexine (de cobaye), de la sensibilisatrice sérum lapin-bœuf 56^o, et de l'antisensibilisatrice (sérum, chauffé à 56^o, de chèvre qui a reçu des injections de sérum lapin-bœuf), constater que l'alexine ne persiste plus à l'état libre. En effet, si l'on ajoute au bout de quelque temps les globules sensibilisés, d'une part à ce mélange, d'autre part à un mélange identique, sauf qu'il ne contient pas de sensibilisatrice, l'hémolyse peut, si les doses sont convenablement choisies, apparaître dans la seconde mixture, et faire défaut dans la première dont l'alexine semble avoir disparu.

4. Ces *Annales*, mai 1900.

Seulement, M. Morgenroth ne démontre point que les effets observés sont dus bien réellement aux substances qu'il met en cause. Rien ne prouve que la disparition de l'alexine soit due à ce que cette substance s'est combinée à la sensibilisatrice lapin-bœuf soudée elle-même aux récepteurs, c'est-à-dire à l'antisensibilisatrice. Pour démontrer que cette sensibilisatrice commande le phénomène, en d'autres termes accapare dans ces conditions l'alexine, il aurait fallu constater notamment que l'on n'obtient nullement le même résultat expérimental, si on mélange de l'alexine, de l'antisensibilisatrice et de l'immunsérum lapin-bœuf préalablement dépoillé de sa sensibilisatrice spécifique grâce à un contact préalable avec les globules appropriés¹.

Le phénomène observé par M. Morgenroth nous paraît, en effet, justiciable d'une explication toute différente. Outre l'alexine, deux sérums interviennent dans l'expérience. Le premier (antisensibilisatrice) a été obtenu par injection (à des chèvres) du second (sérum de lapins immunisés contre les globules de bœuf). Il est certain que le premier est antisensibilisateur à l'égard du second, en ce sens qu'il peut neutraliser la sensibilisatrice spécifique de ce dernier. Mais il est aussi, à un autre point de vue, sensibilisateur à l'égard de ce second sérum, et c'est ce dont M. Morgenroth ne tient pas compte. En effet, l'antisérum (sérum I) provient d'animaux injectés de sérum d'espèce étrangère (sérum II) et, à ce titre, il doit sensibiliser le sérum II considéré comme solution d'albuminoïdes, exactement comme du sérum d'animaux vaccinés contre du lait sensibilise celui-ci, c'est-à-dire confère à certains constituants du lait le pouvoir d'absorber l'alexine². M. Gengou a mis en évidence ce fait intéressant que l'on peut obtenir des « sensibilisatrices antialbuminoïdes » tout à fait comparables aux sensibilisatrices antimicrobiennes ou antihématiques, et qui, comme ces dernières, provoquent la fixation de l'alexine par l'élément impressionné. M. Gengou a prouvé l'existence de semblables sensibilisatrices non seulement dans le sérum d'animaux immunisés contre du lait, mais encore (et ceci rentre tout à fait dans les conditions expérimentales de M. Morgenroth) dans celui d'organismes

1. Ou bien encore si l'on mélange de l'alexine, de l'antisensibilisatrice et du sérum de lapin neuf.

2. GENGOU, Sur les sensibilisatrices des sérum actifs contre les substances albuminoïdes. Ces Annales, octobre 1902.

traités par du sérum étranger. On peut donc supposer que l'absorption d'alexine est opérée, non par le complexe résultant de l'union de l'antisensibilisatrice avec la sensibilisatrice spécifique pour les globules de bœuf, mais simplement par certains albuminoïdes sensibilisés appartenant au sérum lapin-bœuf.

La conclusion de M. Morgenroth nous paraît donc, jusqu'à plus ample informé, inacceptable. Pour nous, la théorie de la déviation du complément par l'ämbocepteur (sensibilisatrice), est une légende. Quant à l'identité des récepteurs et des anticorps, elle nous paraît, nous l'avons dit, inadmissible. Incompatible avec nos résultats, elle ne rencontre aucune confirmation dans les recherches de MM. Pfeiffer et Friedberger, dont le zèle pour la théorie d'Ehrlich reste d'ailleurs inaltérable.

Signalons en passant ce fait que, dans ses expériences, M. Morgenroth n'a point constaté que son antisensibilisatrice puisse guérir des globules déjà sensibilisés. Ce résultat est différent du nôtre; il est vrai que nous n'avons pas employé le même antisérum. Mais on peut se demander si l'emploi exagéré, dans les mélanges, de la solution physiologique (laquelle nous l'avons vu, avec beaucoup à la protection des globules et doit autant que possible être écartée des expériences sur l'hémolyse) n'a pas compromis l'exactitude des observations de ce savant.

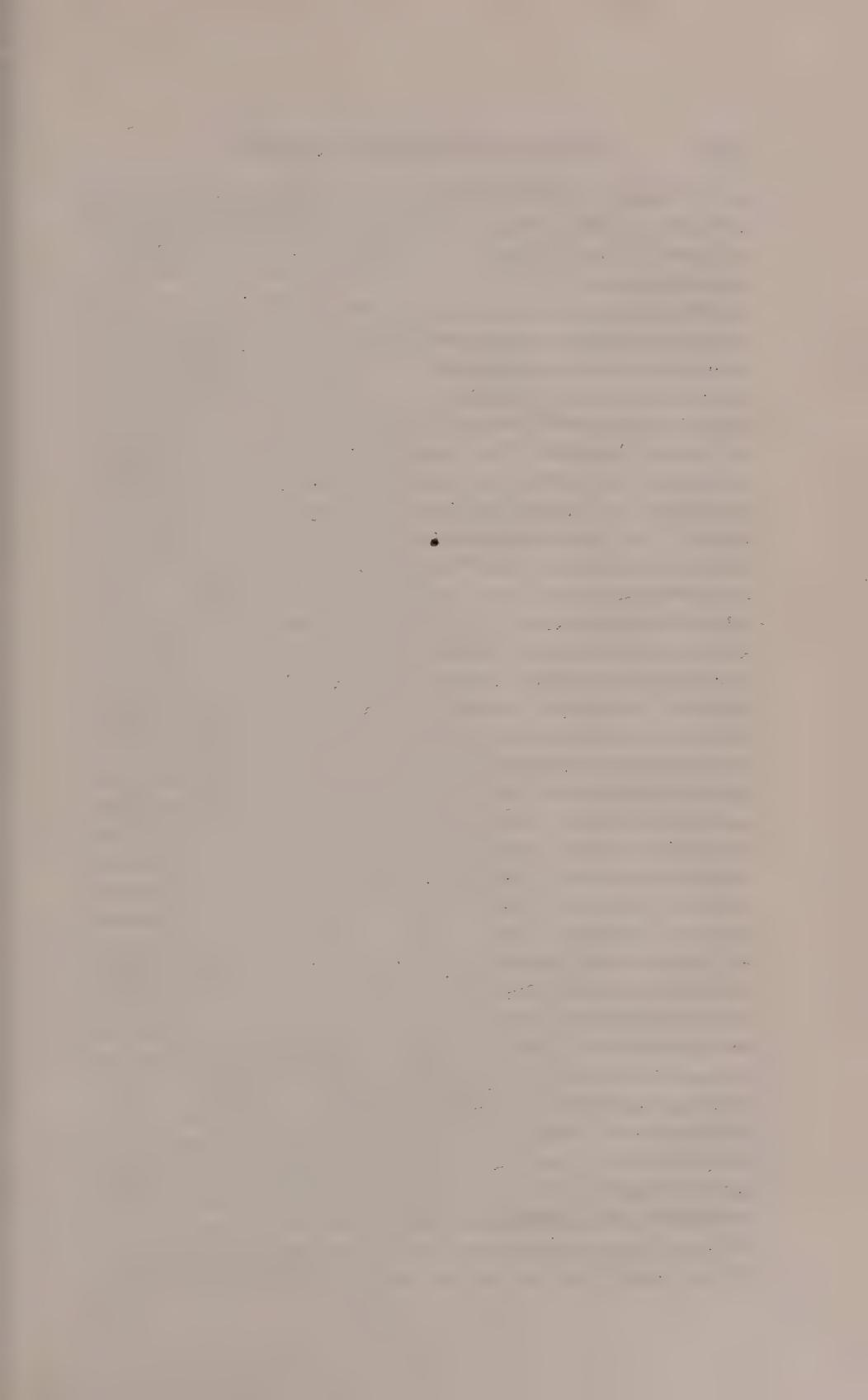
Considérons maintenant, aussi brièvement que possible, les idées émises par MM. Ehrlich et Morgenroth, à propos des antisensibilisatrices, dans leur sixième mémoire sur l'hémolyse.

Ces savants étudient un immunisérum de lapins immunisés contre le sang de bœuf. Ils observent que ce sérum permet l'hémolyse des globules de bœuf sous l'influence de diverses alexines, celles de cobaye et de chèvre notamment. Seulement, ils constatent que, pour provoquer l'hémolyse, il faut sensibiliser les globules plus fortement (en d'autres termes, il faut les traiter par une dose plus forte d'immunisérum chauffé) lorsqu'on met en jeu l'alexine de chèvre que lorsqu'on fait intervenir l'alexine de cobaye. Ce résultat, à vrai dire, n'a rien de surprenant. On sait bien que les alexines d'animaux différents ne sont pas complètement identiques; il serait dès lors bien étrange qu'êtant différentes, elles eussent toutes exactement la même aptitude à détruire une hématie déterminée; il ne faut pas

s'étonner, en conséquence, de voir certaines d'entre elles exiger, pour effectuer l'hémolyse, que les globules soient rendus très attaquables grâce à une sensibilisation fort énergique, d'autres espèces d'alexine détruisant sans peine des globules faiblement impressionnés par la sensibilisatrice. Mais MM. Ehrlich et Morgenroth rejettent cette explication si simple. Ils préfèrent admettre que l'immunsérum contient en réalité deux (ou davantage) sensibilisatrices distinctes *x* et *y*; l'une (*x*), la plus abondante, est très efficace lorsqu'on emploie l'alexine de cobaye, qui lui convient, mais ne trouve pas, dans le sérum de chèvre, de complément (alexine) approprié avec lequel elle puisse s'accorder; cette première sensibilisatrice n'intervient donc pas dans l'hémolyse réalisée par l'alexine de chèvre. Mais d'autre part celle-ci convient très bien à la seconde sensibilisatrice (*y*) de l'immunsérum; toutefois, cette substance *y* n'existant qu'à faible dose, n'exerce ses effets que si l'on a soin de faire intervenir une grande quantité d'immunsérum. Voilà pourquoi il faut employer beaucoup d'immunsérum lorsque, pour provoquer l'hémolyse, on se sert d'alexine de chèvre. Acceptons jusqu'à nouvel ordre, sans insister davantage sur son invraisemblance, cette thèse de la multiplicité des sensibilisatrices dans un même immunsérum, et poursuivons.

MM. Ehrlich et Morgenroth ont un second sérum (antisérum), qui peut neutraliser l'immunsérum lapin-bœuf et qui provient de chèvres injectées au préalable de cet immunsérum. Ils ajoutent tout d'abord à une dose assez forte (que nous appellerons dose A) d'antisérum, une petite quantité de sérum lapin-bœuf, et introduisent dans ce mélange des globules de bœuf. Ceux-ci sont ensuite (après lavage) additionnés d'alexine de cobaye. Les globules résistent, ce qui démontre que le pouvoir sensibilisateur a été aboli par l'antisérum. La conclusion est la suivante : L'antisérum est antitoxique à l'égard de la sensibilisatrice *x* qui convient à l'alexine de cobaye.

MM. Ehrlich et Morgenroth réalisent ensuite une seconde expérience, fort semblable à la première, avec cette différence qu'ils mettent en jeu cette fois l'alexine de chèvre. Dans ces conditions l'antisérum ne paraît nullement protéger les globules : l'hémolyse apparaît. Et voici la conclusion : L'antisensibilisatrice est tellement spécifique que, tout en étant apte à neutraliser la



sensibilisatrice *x*, elle se montre inactive à l'égard de la sensibilisatrice *y*, qui convient spécialement à l'alexine de chèvre. Et ce fait contribue à prouver qu'il y a vraiment deux sensibilisatrices distinctes.

Seulement, le second essai diffère du premier par un détail dont il convient de signaler l'importance. Il me semble de cette idée que l'immunsérum lapin-bœuf ne contient qu'en dose très faible cette sensibilisatrice particulière *y* qui s'accommode de l'alexine de chèvre, MM. Ehrlich et Morgenroth jugent indispensable de mélanger à la dose A d'antisérum (dose identique à celle mise en jeu dans la première expérience) une quantité d'immunsérum lapin-bœuf très supérieure à celle que contenait la mixte de la précédente. Ils s'imaginent que cette technique se justifie pour cette raison qu'un volume même fort grand de sérum lapin-bœuf ne contient qu'une dose très modérée, nullement exagérée, de la sensibilisatrice spéciale *y* qu'on désire soumettre à l'action de l'antisérum et qui seule doit intervenir dans l'expérience, étant seule capable d'opérer l'hémolyse avec le concours de l'alexine de chèvre. Ils ne songent point qu'en agissant ainsi, en ajoutant à la dose A d'antisérum un pareil excédent de sérum lapin-bœuf, ils introduisent dans cet antisérum, non seulement beaucoup trop de sensibilisatrice spécifique (qui semble attirer leur attention), mais encore une forte quantité de sensibilisatrices normales, lesquelles, nous le savons, accaparent et consomment la plus grande part de l'énergie antisensibilisatrice, empêchant ainsi, à l'insu de ces savants, l'annihilation par l'antisérum, de la sensibilisatrice spécifique exclusivement considérée. Naturellement les globules s'hémolysent, il ne saurait en être autrement. Pour rendre imperceptible l'influence protectrice de l'antisérum, il n'eût point été nécessaire d'y introduire un pareil excédent de sérum lapin-bœuf; il eût suffi que l'excédent fût constitué simplement de sérum de lapin neuf. Et dans ces conditions, aucune protection des globules n'eût été observée, même si l'on avait employé, au lieu d'alexine de chèvre, de l'alexine de cobaye. Les laborieuses considérations de MM. Ehrlich et Morgenroth sur la nature des antisensibilisatrices, sur la multiplicité des anticorps et notamment des sensibilisatrices dans un même immunsérum, résultent d'une compréhension fautive et erronée des résultats expérimentaux. On voit par cet exemple que l'argumentation

employée pour défendre la théorie des chaînes latérales est loin d'être toujours inattaquable; elle est, dans certains cas, fort sujette à critiques et ne saurait être acceptée sans discussion.

Théories de l'immunité passive. — L'immunité conférée par l'injection de sérum préventif présente certaines particularités qui dans ces derniers temps surtout, ont beaucoup attiré l'attention. On pensait autrefois que l'organisme auquel on administre par exemple de l'antitoxine, et qui bénéficie du pouvoir protecteur de cet anticorps, se comporte comme un dépositaire passif de la substance immunisante, sans réagir contre elle, sans rien élaborer qui puisse l'annihiler, même si le sérum injecté provient d'un animal différent de celui que l'on traite. Et si l'immunité passive est fugace, cela tient simplement toujours, croyait-on, à ce que les anticorps sont éliminés peu à peu, sans subir toutefois d'altération dans l'organisme. C'était l'opinion générale, et nous la partagions, lorsqu'en 1893 nous avons fait connaître le fait de la collaboration nécessaire des deux substances (sensibilisatrice, alexine) dans la bactériolyse du vibron cholérique. L'animal immunisé par le cholérasérum et qui corrélativement acquiert, comme l'avaient montré Fraenkel et Sobernheim, l'état bactéricide des humeurs, doit, nous avons pu nous en convaincre, ce pouvoir microbicide nouveau d'une part à ce qu'il possédait déjà antérieurement, comme tout animal neuf, l'une des substances indispensables (alexine), d'autre part à ce qu'on lui procure la seconde, la sensibilisatrice spécifique, présente dans le cholérasérum injecté. Le pouvoir bactéricide naît donc dans les humeurs de l'animal traité comme il apparaît dans un tube à réactif contenant du sérum frais d'animal neuf auquel on ajoute un peu de sensibilisatrice anticholérique; dans les deux cas, il reconnaît pour cause la rencontre de deux substances¹. Et si l'immunité disparaît bientôt, c'est que la sensibilisatrice répandue dans les humeurs se perd peu à peu par élimination simple.

Cette explication du fait que l'immunité passive est fugace reste sans doute vraie dans les cas où l'organisme reçoit du sérum provenant d'un animal de même espèce. Mais, quand cet animal appartient à une espèce différente, la durée de l'immunité passive se montre, divers observateurs l'ont constaté, remarquable-

1. *Ces Annales*, Juin 1893, p. 306.

ment brève¹. Et MM. Pfeiffer et Friedberger, à propos précisément du cholérasérum, ont émis cette hypothèse fort plausible que si dans de tels cas l'immunité passive s'évanouit très vite, cela tient à ce que *l'organisme traite combat lui-même les matières actives* injectées, en élaborant des principes antagonistes, notamment des antisensibilisatrices, susceptibles de les annihiler.

On doit dès lors se demander si, en injectant à des animaux d'espèce A des immunséums quelconques (antitoxines, agglutinines, lactosérum, etc.) provenant d'une espèce B, on obtiendra régulièrement, dans tous les cas, des antiséums comparables à ceux qui neutralisent les sensibilisatrices hémolytiques et que nous avons étudiés. Nous l'avons vu, MM. Pfeiffer et Friedberger ont obtenu un anticholérasérum. M. Schütze² a obtenu un anti-lactosérum. Mais MM. Kraus et Eisenberg³, qui ont fait dans cette voie des tentatives nombreuses et systématiques, n'ont pu constater, chez le lapin, la production d'anticorps capables de neutraliser l'antitoxine diphétique de chèvre, l'agglutinine typhique de cheval. Les résultats sont donc fort disparates. Pourquoi la loi qui régit ces phénomènes ne semble-t-elle pas générale?

Pour concilier ces données contradictoires, on a émis, cela va de soi, l'explication suivante, conforme à la théorie d'Ehrlich : L'antitoxine diphétique, l'agglutinine typhique ne manifestent d'affinité que pour certains récepteurs propres aux bacilles diphétiques ou typhiques. Il est fort naturel qu'elles restent libres dans l'organisme auquel on les injecte, car elles n'y trouvent point de récepteurs appropriés; ceux-ci, faisant défaut, ne peuvent être reproduits en abondance, et par conséquent on n'obtient point d'antisérum actif. On peut objecter à cette explication que, si elle était vraie, MM. Pfeiffer et Friedberger n'auraient point obtenu d'antisensibilisatrice active à l'égard du cholérasérum. Mais il suffit, d'autre part, pour que cette remarque soit réfutée à son tour, de dire que, si l'organisme ne possède pas de récepteurs identiques à ceux des bacilles typhiques ou diphétiques (susceptibles par conséquent, d'abord, de fixer

1. Voir notamment, à ce propos, parmi les travaux récents : SCHÜTZE, *Ueber das Verschwinden verschiedener Immunsera aus dem tierischen Organismus. Festschr. v. 60 geburtst. v. R. Koch*, p. 637.

2. *Berliner Klin. Wochenschrift*, 1901, n° 20, p. 4263.

3. *Centralblatt für Bakteriologie*. Originale, 1902, t. XXVI, p. 268.

les matières actives impressionnant ces microbes, ensuite, de se reproduire; il en possède au contraire qui ressemblent fort à ceux du vibrion cholérique. Et si l'expérience avait montré l'inverse, c'est-à-dire qu'on obtient plus facilement un antiphosphérum qu'un anticholérasérum, il eût été opportun d'affirmer, au sujet de l'existence ou de l'absence des récepteurs, exactement le contraire. Bref, qu'on obtienne ou non l'antisérum que l'on cherche, ces résultats opposés sont tous deux également favorables à la théorie des récepteurs; en cas d'insuccès, ceux-ci manquent; ils existent si l'on réussit. Quoi qu'il arrive, leur intervention facilite, dans une large mesure, la compréhension des faits.

Il est néanmoins possible, pour expliquer la divergence des résultats, de proposer une autre explication. Nous l'avons vu, quand on immunise des cobayes contre le sérum de lapin neuf, ces animaux fournissent un antisérum qui neutralise indifféremment soit diverses sensibilisatrices spécifiques de lapin (lapin-bœuf ou lapin-poule par exemple), soit les sensibilisatrices normales (ou les substances d'ailleurs peu connues, appartenant à cette catégorie) du sérum de lapin neuf. Bien plus, *une seule et même* sensibilisatrice confère à l'antisérum ses propriétés antagonistes, est susceptible en d'autres termes de manifester ces affinités diverses en s'unissant aux différentes sensibilisatrices.

Il suit de là que, si l'on désire neutraliser efficacement, sans grande dépense d'antisérum, une sensibilisatrice spécifique déterminée (disons pour préciser la sensibilisatrice lapin-bœuf), il est fort utile d'obtenir tout d'abord celle-ci à l'état pur, sans mélange d'autres sensibilisatrices, avant de la soumettre à l'action de l'antisérum. L'énergie neutralisante de ce dernier est alors, dans sa totalité, exclusivement dirigée sur cette sensibilisatrice isolée: on la concentre, on la fait converger uniquement vers le but poursuivi. Cette purification de la sensibilisatrice était réalisée dans nos expériences, grâce à l'absorption élective opérée par les globules mélangés de sérum lapin-bœuf¹. Mais, si l'on néglige cette précaution, si par exemple on

1. A vrai dire, il serait désirable que l'on pût se procurer, par un autre moyen, une sensibilisatrice spécifique à l'état pur. On pourrait alors (ce qui serait de beaucoup préférable) la soumettre à l'action de l'antisérum avant de la mettre en contact avec les globules sensibles. Cette technique est jusqu'à présent inexécutable; mais elle est théoriquement beaucoup mieux appropriée que celle dont nous avons dû faire usage. En effet, il se pourrait qu'une sensibilisatrice fût

mélange tout d'abord l'antisérum à l'immunsérum complet qui, à côté de la sensibilisatrice spécifique soumise à l'étude, contient d'autres principes analogues, on dissémine en pure perte l'effet neutralisant. Lorsqu'à nos globules sensibilisés nous ajoutons, soit avant, soit même après les avoir mélangés à l'antisérum, des sensibilisatrices normales sous forme de sérum de lapin neuf 3% (ou 'bien' sous forme de sérum lapin-bœuf expurgé au préalable de sa sensibilisatrice spécifique par contact antérieur avec des globules de bœuf), la guérison des globules était gravement compromise, parce que le pouvoir neutralisant cessait d'être concentré uniquement sur la sensibilisatrice dont le sort des globules dépendait. Si donc on mélange simplement (comme on le fait d'habitude) l'antisérum avec l'immunsérum complet contenant la sensibilisatrice spécifique (ou l'antitoxine, ou l'agglutinine, — car les remarques que nous venons d'émettre peuvent s'appliquer, semble-t-il, à l'ensemble des recherches relatives aux anti-anticorps) dont on veut abolir l'énergie, les chances que l'on aura de constater la neutralisation prévue dépendront de la teneur de l'immunsérum en sensibilisatrices respectivement spécifique et normales. Plus celles-ci seront abondantes, moins la spécifique sera atteinte par l'antisérum, et l'atténuation qu'elle subira pourra être si faible, que l'observation ne la dérotera plus. Et si les antisensibilisatrices — on pourrait dire aussi les anti-antitoxines — ont la réputation d'être des substances antagonistes d'une énergie plutôt médiocre — parfois même nulle — cela tient en partie tout au moins à ce que nous ne constatons point, dans leur ensemble, les effets qu'elles produisent. Quand nous exigeons d'elles qu'elles neutralisent un anticorps déterminé, quand nous leur présentons un immunsérum, nous ne tenons pas compte de ce que leur pouvoir s'épuise à saturer d'autres matières présentes aussi dans l'immunsérum, mais que notre expérimentation néglige et que nous ignorons. Il serait étrange que la proportion relative des substances incapable de guérir des globules sensibilisés, tout en se montrant efficace lorsqu'on la fait agir sur la sensibilisatrice à titre préventif, c'est-à-dire avant que celle-ci n'ait touché les globules. On peut prévoir en effet, comme nous le disons plus loin, qu'une lutte doit se passer entre les affinités que la sensibilisatrice manifeste d'une part pour le globule, de l'autre pour l'antisensibilisatrice. Et si, dans certains cas, la combinaison de la sensibilisatrice avec le globule se montrait très stable et peu attaquable, il se pourrait qu'elle ne fût pas influencée notablement par l'addition ultérieure d'antisensibilisatrice. De tels cas se rencontreront peut-être.

actives, normales d'une part, spécifiques de l'autre, fût toujours la même dans les immunsérum, quels que soient les exemples choisis, quelles que soient aussi les espèces animales dont le sérum provient. Il faut donc s'attendre à ce que les anti-anticorps ne soient pas toujours décelables par l'expérience. De là sans doute l'irrégularité des résultats obtenus. Mais d'autres facteurs encore interviennent, susceptibles d'influencer ces résultats. Des affinités diverses entrent en conflit dans les expériences de ce genre. Il y a l'affinité de l'anti-anticorps pour l'anticorps spécifique, ou pour les substances normales de même catégorie, il y a l'affinité de l'anticorps spécifique pour l'élément ou matière sensible qui sert de réactif. Il faut considérer en outre la plus ou moins grande vulnérabilité de cet élément, la plus ou moins grande stabilité de cette matière sensible. La résultante de ces facteurs divers est seule à nous apparaître et peut être variable, les résultats semblant dès lors incohérents, sans que les lois qui régissent ces phénomènes cessent d'être générales. L'étude de l'immunité est fertile en exemples que l'on peut invoquer à ce propos. C'est une loi générale que l'injection de microbes provoque l'apparition de sensibilisatrices, et nous savons que celles-ci tendent à exalter l'activité microbicide de l'alexine: c'est pourtant un résultat assez exceptionnel que d'obtenir un immunsérum fortement bactéricide pour les microbes inoculés. Pourquoi? Parce que s'il existe des microbes délicats, pour lesquels les sérum de vaccinés sont funestes, il en existe beaucoup d'autres qui sont plus résistants, et qui, ensemencés dans un semblable milieu, n'y subissent comme M. Metchnikoff l'a prouvé par tant d'exemples démonstratifs, aucune avarie.

Lorsqu'on injecte aux animaux un immunsérum dans l'espoir d'obtenir un anti-anticorps, on obéit assez naturellement à cette idée directrice que l'animal va diriger particulièrement ses efforts contre l'anticorps qui intéresse et monopolise l'attention. Si l'expérience réussit et porte par exemple sur le cholérasérum, si en outre on est partisan de la théorie d'Ishelieb, on énoncera cette conclusion que l'animal fournit un anticholérasérum parce qu'il a surproduit des récepteurs assez analogues à ceux dont le vibron cholérique est doué. En réalité les choses ne se passent pas ainsi. Si la cholérasensibilisatrice est

touchée, elle ne le sera point en raison de ses qualités spécifiques et particulières, en raison de ce fait qu'elle impressionne le vibrion cholérique. Si elle est neutralisée, ce n'est point « à titre personnel », si l'on peut s'exprimer ainsi; c'est uniquement parce qu'elle appartient, comme toute autre sensibilisatrice (et sans doute aussi comme les antitoxines) à une catégorie de substances qui déterminent une réaction, lorsque, provenant d'une espèce A, elles sont injectées à une espèce B. Et si un langage très familier était permis, on pourrait dire que l'animal injecté ne s'inquiète nullement de savoir si l'anticorps qu'on lui administre influence les toxines téstanique ou diphtérique, ou bien encore impressionne les microbes cholérique ou typhique; les récepteurs de ces bacilles, les groupes haptophores de ces toxines le laissent indifférent et ne commandent guère sa réaction.

Mais ces anticorps appartiennent à la famille des matières actives du sérum. Ce que l'animal sait, ce contre quoi il proteste, c'est que certains membres de cette famille (sinon tous) déterminent en lui un certain trouble, lorsqu'il ne les a point élaborés lui-même, lorsqu'ils portent le cachet d'une espèce étrangère. N'oublions pas, au surplus, que l'injection d'immunsérum comporte non seulement celle d'un anticorps spécifique, *mais aussi celle de sérum neuf*. Percevant donc la présence inusitée de ces matières étrangères, l'organisme secrète une substance antagoniste. Et il se fait que celle-ci *n'a pas de spécificité stricte*, ne choisit pas telle matière active plutôt que telle autre. Elle peut donc servir à protéger, dans les expériences, soit des microbes, soit des globules divers, contre les anticorps appropriés dont on dispose. Si donc on peut neutraliser des anticorps spécifiques en se servant d'antisérum provenant d'animaux injectés simplement de sérum neuf (pourvu que ces anticorps spécifiques et ce sérum neuf aient été fournis par la même espèce animale, différente de celle qui a subi l'injection) -- cela tient précisément à ce que l'antisérum porte son action sur la catégorie tout entière des matières actives.

Certes, on ne saurait nier que la réaction de l'animal pourra (théoriquement du moins) être plus intense s'il reçoit du sérum manifestant à son égard une très forte toxicité, s'il reçoit par exemple un immunsérum dont la spécificité est dirigée précisément contre l'anticorps spécifique.

ment contre ses propres cellules¹. Toutefois, ce n'est point là, nous l'avons vu, une condition indispensable à l'apparition de la réaction — ce qu'on conçoit facilement du reste, car le sérum normal lui-même produit toujours certains effets nuisibles sur les organismes d'espèce différente.

Mais, lorsqu'on voit un organisme injecté d'un immunisérum spécifiquement actif à l'égard de microbes ou de cellules quelconques n'ayant absolument rien de commun avec cet organisme, réagir en sécrétant une matière antagoniste capable de neutraliser l'antécropus injecté, on ne pourrait légitimement conclure, nous semble-t-il, à l'*existence nécessaire d'une identité ou d'une étroite parenté de constitution entre les éléments cellulaires de l'organisme et ceux (microbes, cellules, produits microbiens etc.) vis-à-vis desquels le sérum injecté manifeste électivement ses propriétés spécifiques*. Il n'y a point lieu de faire intervenir l'idée de la communauté des récepteurs. En réalité, dans de tels cas, l'antisérum ne diffère pas de celui qu'on aurait obtenu en injectant simplement du sérum neuf; il porte, nous le répétons, globalement et indistinctement son action sur la classe toute entière des matières actives que le sérum étranger est susceptible de renfermer.

Nous croyons donc que l'extrême fugacité de l'immunité passive créée par l'injection de sérum étranger doit réellement être attribuée à ce que l'organisme tend, en règle très générale, à sécréter une substance antagoniste. Si la présence de celle-ci ne se décèle pas toujours facilement dans les expériences, cela tient à ce que diverses conditions sur lesquelles nous avons insisté plus haut doivent être réunies pour que les effets de cette substance se développent efficacement. Ceux-ci dépendent des doses employées et vraisemblablement aussi des affinités que manifestent les éléments divers participant à la réaction. Pour ce qui concerne les doses, il faut remarquer que lorsqu'on injecte un immunisérum dans le but de conférer l'immunité passive, la dose de sérum administrée est toujours très faible relativement à la masse de sang de l'animal traité; dans ces conditions, le pouvoir antagoniste qui se développe bientôt a plus de chances de se manifester que dans les expériences où l'on

1. Remarquons cependant que MM. Kraus et Eisenberg n'ont point obtenu, en injectant à des chiens un immunisérum spécifiquement actif à l'égard des globules de cet animal, d'antisérum dont l'efficacité ait pu être décelée.

a souvent une tendance à faire intervenir l'antisérum à dose véritablement trop minime.

CONCLUSIONS

Un antisérum obtenu par injection, à des animaux d'espèce A, de sérum neuf d'espèce B, donne lieu aux observations suivantes :

I. Des globules rouges divers, sensibilisés par de sérum hémolytiques appropriés (chauffés au préalable à 56°) provenant de l'espèce B, perdent leur sensibilisation à l'alexine si on les met en contact avec l'antisérum. Toutefois la sensibilisation est plutôt fortement atténuée que complètement abolie; elle peut en effet se manifester encore si les globules sont placés dans un milieu défectueux qui diminue leur résistance (solution physiologique).

II. Pour obtenir un antisérum capable de neutraliser différentes sensibilisatrices spécifiques qu'une même espèce B peut élaborer sous l'influence de traitements immunisants, il n'est pas nécessaire d'injecter aux animaux ces sensibilisatrices spécifiques, il suffit de leur injecter du sérum normal d'espèce B.

III. Le pouvoir que l'antisérum ainsi obtenu possède de neutraliser ces diverses sensibilisatrices spécifiques et aussi les anticorps du sérum neutre B (sensibilisatrices normales) doit être attribué à la présence dans cet antisérum d'une antisensibilisatrice unique. Il n'y pas lieu d'admettre la multiplicité des antisensibilisatrices dans un même antisérum. Au point de vue de l'influence de l'antisensibilisatrice, il y a plus de parenté entre des sensibilisatrices de provenance commune, mais actives à l'égard d'éléments différents, qu'entre des sensibilisatrices actives sur le même élément, mais qui ont été élaborées par des organismes divers.

IV. L'antisensibilisatrice se consomme en agissant. Des globules sensibilisés introduits dans l'antisérum enlèvent à ce dernier le pouvoir de protéger désormais de nouveaux globules sensibilisés soit de même espèce, soit d'espèce différente. — De même, les anticorps normaux du sérum neuf B neutralisent l'antisérum.

V. L'antisérum guérit les globules sensibilisés en se combi-

nant à la sensibilisatrice spécifique fixée elle-même sur ces derniers. Les globules ainsi préservés résistent à l'alexine même si on les débarrasse par le lavage de l'excès du sérum protecteur.

VI. Tout se passe comme si le complexe formé par l'union de l'antisensibilisatrice avec la sensibilisatrice spécifique soudée au globule pouvait être décomposé (la sensibilisation réapparaissant) lorsqu'on le soumet à l'action des anticorps normaux (sérum neuf B ou bien encore immunsérum d'espèce B dépoilé au préalable de son anticorps spécifique par contact avec l'élément sensible approprié), ceux-ci étant capables de s'emparer d'une partie tout au moins de l'antisensibilisatrice précédemment combinée à la sensibilisatrice spécifique.

VII. Le pouvoir de s'opposer à l'influence curatrice de l'antisérum sur les globules sensibilisés, que le sérum neuf B manifeste grâce aux anticorps normaux qu'il contient, résiste à la température de 70°, mais non à celle de 100°. On ne le constate pas dans l'humeur aqueuse d'espèce B. Il a été démontré antérieurement que l'humeur aqueuse des animaux vaccinés ne contient pas de sensibilisatrices spécifiques.

VIII. En saturant la sensibilisatrice fixée sur les globules, l'antisérum enlève à ces derniers la faculté (conférée par la sensibilisation) d'absorber l'alexine.

IX. On doit considérer comme insuffisamment démontrée l'opinion de certains auteurs relative à l'identité des anticorps, impressionnant le même élément sensible, et que l'on trouve dans le sérum, d'une part des animaux neufs, d'autre part des animaux de même espèce immunisés contre cet élément.

X. La théorie d'Ehrlich, d'après laquelle les anticorps spécifiques seraient identiques aux récepteurs cellulaires combinables aux substances contre lesquelles l'organisme est immunisé, est erronée. Les arguments tirés de l'étude des antisensibilisatrices, et qui ont servi à étayer cette théorie, ne sont pas valables. La thèse qu'un même immunsérum hémolytique renferme plusieurs sensibilisatrices spécifiques distinctes n'a pas reçu la sanction expérimentale. L'idée de la déviation du complément par un excès de sensibilisatrice est purement hypothétique.

XI. La brièveté de l'immunité passive conférée par une injection d'immunsérum d'espèce étrangère semble bien due à ce que l'organisme, en règle très générale, élabore une matière

antagoniste. L'influence de celle-ci n'est pas spécialement dirigée contre l'anticorps spécifique qui a conféré l'immunité. Elle s'exerce, d'une manière globale, sur l'ensemble des anticorps (normaux ou spécifiques) que le sérum étranger renferme. La production de la matière antagoniste n'est donc nullement subordonnée à l'existence d'une identité ou d'une troite parenté de constitution entre les éléments cellulaires de l'organisme et ceux (microbes, cellules quelconques, poisons, etc.) vis-à-vis desquels le sérum injecté manifeste électivement ses propriétés spécifiques. Il n'y a pas lieu, en d'autres termes, de faire intervenir l'idée de la communauté des récepteurs.

Recherches sur la glycolyse des organes des mammifères.

PAR P. PORTIER.

Travail du laboratoire de M. Gob. Bertrand.

Historique. — Au cours de l'année 1903, Stoklasa fit paraître une série de mémoires qui avaient pour but d'établir la possibilité d'extraire des tissus des végétaux, et même des organes des animaux supérieurs, un ferment soluble analogue ou identique à la zymase de Büchner; qui, par conséquent, provoquait la décomposition des sucres, du glucose par exemple, en un mélange d'alcool et d'acide carbonique.

L'intérêt de cette découverte était considérable, aussi bien au point de vue de la physiologie générale que de la pathologie; les travaux sur la question se multiplièrent: nous allons d'abord les exposer successivement et en faire la critique.

Le premier travail de Stoklasa paru dans le *Journal de Hofmeister*¹, a trait à la respiration anaérobiose des plantes supérieures (raves, pois, etc.). Il montre que cette respiration est identique à la fermentation alcoolique: formation de CO_2 , d'alcool éthylique et des produits accessoires habituels.

En employant un procédé analogue à celui de Büchner (organes broyés et soumis à 300 atmosphères de pression), il obtient un suc qui, traité par l'alcool et l'éther, fournit un ferment soluble capable de produire *in vitro* la fermentation alcoolique. Résultats analogues d'ailleurs avec les plantes non soumises à l'asphyxie.

Stoklasa ne tarde pas à étendre ses recherches aux tissus des animaux.

Il aurait constaté d'abord que des organes entiers (coeur, poumons, etc.), prélevés aseptiquement aussitôt après la mort de l'animal, plongés dans une solution faible de sublimé, puis introduits dans une solution de glucose en présence d'une atmosphère d'hydrogène, provoque la décomposition du glucose.

1. Voir les indications bibliographiques à la fin du mémoire.

en alcool et acide carbonique. L'action n'est pas négligeable puisqu'un cœur de chien, du poids sec de 21 grammes, produit en 10 jours 1^{er},966 d'acide carbonique et 2^{er},09 d'alcool.

Il serait possible d'extraire la zymase des organes en les hachant, les broyant avec du sable, et soumettant la masse à la presse hydraulique à 300 ou 400 atmosphères. Le liquide obtenu, précipité par un mélange d'alcool et d'éther, fournirait une poudre qui posséderait toutes les propriétés de la zymase. Le mélange obtenu en délayant cette poudre dans l'eau pourrait même être filtré sur terre d'infusoire sans perdre ses propriétés, puisqu'à 37°, elle produirait une fermentation immédiate¹.

Il existerait donc dans les différents organes (cœur, foie, muscle, etc.) des animaux supérieurs un ferment analogue à la zymase.

L'auteur assure s'être préparé contre l'invasion possible des bactéries, et n'avoir tenu compte que des recherches où les cultures des liquides d'expérience sur bouillon et sur gélatine n'ont donné que des résultats négatifs, ou tout au moins n'ont décelé que des bactéries incapables elles-mêmes de produire les effets observés.

Feinschmidt cherche à reproduire les expériences de Stoklasa; il arrive à peu près aux mêmes conclusions, mais signale l'influence néfaste exercée par les antiseptiques sur le ferment de Stoklasa.

Simacek s'attache à isoler le ferment du pancréas, il y parvient; mais à la lecture de son travail, on est étonné du procédé employé pour faire la part de l'action due au ferment soluble et de celle due aux bactéries; nous reviendrons sur cette question.

Son travail ne tarde pas à être critiqué par Conheim qui n'obtient la glycolyse que par le mélange du suc de pancréas à celui de muscle.

Bientôt paraissent de nouveaux mémoires de Simacek, de Stoklasa seul ou en collaboration avec Czerny, où les auteurs s'efforcent de réfuter les critiques de Conheim et insistent sur ce fait que l'action observée ne tient pas à la présence de bactéries. Batelli, employant la méthode indiquée par Stoklasa, constate que dans les solutions additionnées d'une quantité suffisante d'antiseptique, il ne se produit pas trace de fermentation. Si

1. *Centralblatt f. Physiologie*, 1^{er} février 1902, p. 656.

L'antiseptique est en quantité insuffisante, la fermentation alcoolique s'établit, mais on peut toujours, dans ce cas, déceler la présence de bactéries. Celles-ci se développent même dans les solutions contenant 30 % de saccharose contrairement à l'opinion de Simacek.

La lecture attentive des différents mémoires de Stoklasa et de ses élèves révèle en effet une singulière méconnaissance de la biologie des bactéries.

C'est ainsi que Simacek, dans son mémoire du *Centralblatt f. Physiologie* du 18 juillet 1903, après avoir constaté qu'en 24 heures à 37° degrés il s'est produit de 630 à 720 milligrammes d'acide carbonique et de l'alcool, reconnaît que les bactéries interviennent dans le phénomène observé. Il cherche alors à faire la part de cette action des bactéries en ensemencant 5 c. c. du liquide d'expérience dans une solution à 10 pour 100 de saccharose. Dans ces recherches « de contrôle » ainsi que les qualifie l'auteur, il se forme la moitié (et quelque fois davantage) de la quantité d'acide carbonique des expériences type, et Simacek croit pouvoir en tirer la conclusion qu'une bonne part de l'action observée est due à la zymase. Aucun bactériologiste ne sera cependant étonné que des bactéries transportées d'un milieu donné dans un autre moins favorable (ici moins riche en albuminoïdes) « travaillent » moins bien que précédemment, et le fait de veadoir tirer des conclusions fermes d'une telle expérience jette une suspicion sur tout le reste du travail. L'auteur nous affirme bien, à la vérité, que les cultures faites avec d'autres liquides d'expérience sont restées stériles, mais on aimerait à savoir dans quelles conditions ont été faites ces cultures, quelle a été la quantité de liquide d'expérience employé pour l'ensemencement, etc.

L'examen des tableaux annexés aux mémoires de Stoklasa¹, montre que *pas une seule fois* l'auteur ne donne de dosage de l'alcool formé pour les expériences dans lesquelles un antiseptique a été employé.

Quant à la prétention de Simacek d'empêcher tout développement microbien en opérant avec des solutions de saccharose à 30 pour 100, elle n'est évidemment pas soutenable, et Batelli l'a

1. Voy. en particulier *Centralblatt f. Physiologie*, 21 nov. 1903, p. 472.

réfutée. Les récentes expériences de Ch. Richet¹ ont d'ailleurs bien mis de nouveau en évidence la résistance aux antiseptiques de certaines bactéries, du ferment lactique en particulier qui, probablement, envahit souvent les liquides des expériences qui nous occupent; tous les auteurs qui ont travaillé ce sujet ont constaté l'acidification de leurs liqueurs. J'ai fait la même remarque².

Il y a enfin un point des expériences de Stoklasa sur lequel je désire appeler l'attention. L'auteur précipite le suc de presse par un mélange d'alcool et d'éther et, à plusieurs reprises, il insiste sur la nécessité de soustraire très rapidement le précipité au contact de l'alcool éther, qui affaiblit et détruit même bientôt l'action du ferment. Or le procédé employé par Stoklasa ne permet pas, comme il le dit, d'opérer en quelques minutes la séparation du précipité; si on laisse en effet, comme le fait l'auteur, le précipité gagner de lui-même le fond du vase, il faut un temps beaucoup plus long, et pouvant même atteindre plusieurs heures, pour que la séparation du liquide soit suffisante et qu'il soit possible d'en opérer la décantation; conditions tout à fait défavorables d'après Stoklasa lui-même, à la préparation d'une zymase douée d'une grande activité. Il m'a donc paru qu'il y avait une contradiction évidente entre les recommandations de l'auteur et son mode opératoire; j'ajoute qu'en répétant les expériences de Stoklasa, j'ai employé la centrifugation, ce qui m'a permis d'opérer la séparation instantanée du précipité ainsi qu'on le verra dans un instant.

Malgré l'incertitude des preuves fournies et les objections qui leur ont été adressées, Stoklasa et Simacek maintiennent énergiquement leurs conclusions.

Il m'a donc semblé intéressant de reprendre leurs expériences en me plaçant, pour la préparation du ferment, dans les conditions qui sont indiquées comme les plus favorables par les auteurs eux-mêmes.

Les conditions de l'action du ferment ont été de deux sortes :

1^o Action à 36° pendant une durée assez longue (24 heures

1. CH. RICHET. Études sur la fermentation lactique. — De l'action soi-disant antiseptique du chloroforme et du benzène, *Comptes rendus, Société de biologie* 1904, p. 216.

2. STOKLASA attribue à un ferment soluble la production de cet acide qu'il croit être de l'acide lactique.

par exemple) en présence d'un antiseptique présentant une sécurité absolue pour l'élimination des bactéries (sucrure de sodium à 1 ou 2 pour 100).

2^e Action à 30° ou 36°, en l'absence de tout antiseptique, ou en présence de chloroforme pendant une durée de quelques heures, (2 à 3). Stoklasa et Simaek ont en effet insisté à plusieurs reprises sur ce que, dans ces conditions très favorables, la fermentation s'établit instantanément (augenblicklich) et avec une telle intensité que le dégagement d'acide carbonique produit de la mousse à la surface du liquide. En 2 ou 3 heures on devra donc observer déjà une diminution très notable du sucre.

Quant aux expériences de longue durée (celles de Stoklasa ont duré jusqu'à 10 jours) en présence d'un antiseptique insuffisant (toluène à 1 p. 100, etc.), je les ai écartées, les jugeant sans valeur aucune à cause de l'intervention des bactéries pour la démonstration d'un ferment soluble.

Mode opératoire. — Les organes d'animaux récemment tués (chevaux, porcs, chiens) étaient broyés¹ finement, puis triturés avec du sable siliceux soigneusement lavé, jusqu'à consistance d'une pâte assez ferme.

Cette pâte, enveloppée dans une forte toile, était ensuite soumise à l'action très progressive d'une presse hydraulique jusqu'à une pression finale de 250 à 400 kilogrammes par centimètre carré.

Le liquide, riche en albuminoides, obtenu par ce procédé était employé soit tel quel, soit traité par un mélange d'alcool et d'éther dans les proportions indiquées par Stoklasa² dans ses derniers travaux. Le précipité obtenu était rapidement séparé par la centrifuge, redelayé dans l'éther, et centrifugé de nouveau. Le précipité recueilli était essoré à la trompe et mis à sécher dans le vide sur l'acide sulfurique. On s'est toujours attaché à mener ces opérations avec la plus grande rapidité, et il ne s'écoulait pas plus de 10 minutes ou un quart d'heure entre le moment où on additionnait le suc de presse du mélange alcool-éther et celui où on plaçait le précipité dans le vide sec à 30 degrés. La

1. Dans certaines expériences sur le pancréas, organe particulièrement difficile à réduire en pulpe, nous nous sommes servis du broyeur imaginé par M. Borrel et que celui-ci a très obligamment mis à notre disposition; nous lui adressons nos vifs remerciements. Dans les autres expériences, nous avons fait usage du broyeur Latajka.

2. Pour un volume de liquide, on employait un volume d'alcool à 36° et un volume d'éther.

poudre obtenue était employée dans les deux jours suivants, ou au plus une semaine après¹.

Pour étudier l'action sur une solution de glucose, on préparait toujours en même temps deux flacons identiques, dont l'un était analysé immédiatement et dont l'autre était analysé après un séjour déterminé à l'étuve, en se plaçant rigoureusement dans les mêmes conditions que pour le premier. La comparaison des deux résultats devait donner la quantité de sucre disparu.

La précipitation des albuminoïdes pour le dosage du sucre était faite au moyen du nitrate mercurique par un procédé analogue à celui qui a déjà été employé pour la précipitation des matières albuminoïdes du sang².

Expérience I. — Pancréas de porc.

Solution de NaFl à 1 0/0.....	50 c. c.
Glucose.....	2 grammes.
Suc de presse non précipité par l'alcool-éther.....	25 c. c.
On laisse 44 heures à 36° et 24 heures à 15°.	

L'analyse à ce moment donne 2^{gr},01 de glucose. Soit une différence en plus de 0,6 pour 100, ce qui rentre dans la limite des erreurs analytiques.

Conclusion. Donc, pas de consommation de sucre.

Expérience II. — Pancréas de cheval.

Eau distillée.....	50 c. c.
Glucose.....	2 gr. 50
Suc de presse non précipité.....	25 c. c.
Chloroforme à saturation.	

On laisse 29 heures à 36°.

On constate alors une différence en moins de 0^{gr},039 de glucose, soit une diminution de 1,5 pour 100 rentrant à peu près dans les erreurs de dosage.

Expérience III. — Pancréas et muscles de chien, isolés ou associés.

A. Suc de presse de muscle non précipité.....	50 c. c.
Glucose.....	1 gramme.
Pas d'antiseptique.	

2 heures à 36°.

L'analyse trouve 1^{gr},014 de glucose.

Déférence en plus de 1,1 pour 100, rentrant dans les erreurs d'analyse.

1. Stoklasa insiste en effet sur ce que la zymase se détruirait assez rapidement.

2. Voy. BIERRY ET PORTIER, *Comptes rendus de la Société de Biologie*.

B. Suc de presse de muscle non précipité	45 c. c.
— — — pancréas —	5 c. c.
Glucose.....	1 gramme.
2 heures à 36°, sans antiseptique.	

L'analyse donne 1^{er}, 007 de glucose. Soit une différence en plus de 0,7 pour 100, rentrant dans les erreurs d'analyse.

C. Suc de presse de muscle non précipité	31 c. c.
— — — pancréas —	5 c. c.
Fluocure de sodium à 4 0 0:.....	14 c. c.
Glucose.....	1 gramme
25 heures à 36°.	

On retrouve juste 1 gramme de glucose.

Expérience IV. — Muscle de bœuf.

Du muscle de bœuf traité à la manière habituelle est soumis à la pression de la presse hydraulique. Le liquide qui s'écoule pendant les premières phases de l'opération, c'est-à-dire pendant que la pression varie de 0 à 75 kilogrammes par centimètre carré, est rejeté; d'après Stoklasa, il contiendrait en effet peu de ferment.

Le liquide s'écoulant de 75 à 300 kilogrammes par centimètre carré est précipité par l'alcool-éther.

On prépare le flacon :

Eau distillée.....	40 c. c.
Précipité sec	3 grammes.
Glucose.....	1 gr. 5
4 heures à 30°, sans antiseptique.	

L'analyse donne 1 gr. 59, soit une différence en plus de 0 gr. 09, ou 6 0/0.

Remarque. Cette production de sucre s'opère probablement aux dépens du glycogène contenu dans le muscle. Il serait possible que ce phénomène vint masquer l'action de la zymase, aussi m'a-t-il paru dans ce cas utile de rechercher la présence de l'alcool.

Pour cela, les 2/3 du liquide d'analyse du flacon sont légèrement acidifiés par l'acide sulfurique, on distille 3 c. c. au moyen de l'appareil de Schlöesing. On additionne ce distillat de potasse caustique et d'iodure de potassium ioduré; on perçoit immédiatement une odeur d'iodoforane.

D'autre part, 1 goutte d'alcool à 70° est mélangé à 3 c. c. d'eau; on traite de la même manière que précédemment, et on obtient

un dépôt de cristaux d'iodoforme supérieur à celui du liquide d'expérience. Il n'existerait donc dans ce liquide que des traces d'alcool.

Expérience V. — Foie de bœuf.

Comme dans l'expérience précédente, on recueille seulement le suc de presse qui s'écoule de 75 à 390 kilogrammes par centimètre carré. On précipite par l'alcool-éther.

On prépare les flacons :

A. Eau distillée.....	10 c. c.
Glucose.....	1 gr. 50
Précipité.....	3 grammes.
B. Eau distillée.....	10 c. c.
Précipité.....	3 grammes.
Pas de glucose.	

Les flacons sont laissés 3 heures et demie à 30 degrés sans addition d'aucun antiseptique.

On procède à ce moment à leur analyse, et on trouve que

A contient.....	1 gr. 61 de glucose.
B —	0 gr. 49 —

Donc, encore ici, on ne constate aucune disparition de sucre, il y a même apparition dans le flacon A de $1,61 - 1,50 = 0,11$ de glucose. Ce glucose s'est formé aux dépens du glycogène existant dans la liqueur, c'est ce que révèle l'examen du flacon B, dans lequel il s'est formé $0,11$ de sucre. On voit que dans ce flacon B, il s'est formé plus de sucre que dans A ($0,11$ au lieu de $0,11$), soit $0,08$ en plus; ce qui n'a rien d'étonnant, la saccharification du glycogène par les ferment, dans A, étant entravée par la présence du glucose ajouté.

Expérience VI. — Poumon de bœuf.

Suc de presse obtenu en pressant de 0 à 375 kilogr. par centimètre carré; et précipité par l'alcool-éther.

On prépare les flacons.

A. Eau distillée.....	10 c. c.
Glucose	1 gr. 50
Précipité	3 grammes.
B. Eau distillée	10 c. c.
Précipité	3 grammes.
Pas de glucose.	

On laisse les flacons 3h. 1/2 à 30° sans antiseptique.

Au bout de ce temps, l'analyse démontre que :

A contient.....	4 gr. 48
B " "	0 gr. 01

On voit donc qu'il a disparu 0^{er},03 de glucose, ce qui donne une différence de 3,09 pour 100.

En tenant compte de B, il aurait même disparu au plus 0^{er},06 de glucose.

En distillant une portion des liquides des flacons A, B et du flacon C immédiatement analysé, et dosant l'alcool au moyen du bichromate de potasse et de l'acide sulfurique, on constate que :

A contient.....	3 milligrammes d'alcool.
B " "	8 " "
C " "	3 " "

On voit donc que les petites quantités d'alcool qui existent dans les flacons ne sont nullement en rapport avec les quantités de glucose disparu.

CONCLUSIONS.— 1^o En présence d'antiseptiques suffisants, comme le fluorure de sodium à 1 pour 100, les sucs de presse des différents organes agissant à 36° et pendant 2 jours ne produisent aucune glycolyse;

2^o En l'absence d'antiseptique ou en présence de chloreforme, les sucs de presse (ou leurs précipités) agissant pendant 2 à 3 heures à la température de 30° à 36° ne sont encore capables de produire aucune glycolyse¹.

Avec le suc de certains organes riches en glycogène, on observe même une augmentation du pouvoir réducteur, ce qui tient à une transformation du glycogène sous l'influence de l'amylase et de la maltase des tissus;

3^o Jamais, dans les conditions précédentes, on n'observe de formation d'alcool en quantité appréciable.

J'ai toujours constaté, au cours de manipulations (broyage, extraction à la presse hydraulique), que les liquides d'expérience prenaient une réaction nettement acide, probablement due au développement des bactéries.

En résumé, il m'a été impossible de retrouver les faits décrits par Stoklasa et Simacek, même en réunissant toutes les conditions expérimentales les plus favorables indiquées par ces auteurs.

1. Les faibles quantités de glucose disparues dans quelques cas rentrent dans la valeur des erreurs d'expérience.

Je pense que la consommation du glucose, dans les expériences de longue durée des auteurs précédents, tient au développement de bactéries en présence d'antiseptiques insuffisants. Quant à la fermentation instantanée est intense qu'elle s'accompagne de production de mousse, je renonce à l'expliquer, je constate seulement que je ne l'ai jamais remarquée.

En terminant, je ferai remarquer que je n'ai opéré que sur de glucose, mais d'après les auteurs précédents, Simacek en particulier, les bioses (saccharose, lactose) subiraient très énergiquement la fermentation alcoolique sous l'action des sucs de presse des différents organes. Cette fermentation s'accomplirait en deux temps : 1^o dédoublement du biose sous l'influence d'un ferment soluble approprié (invertine, lactase), 2^o fermentation des hexoses formés sous l'influence de la zymase. Cette zymase d'après Stoklasa et Simacek serait très fragile ; elle n'agirait pas en présence des antiseptiques en quantité suffisante pour empêcher le développement des bactéries ; elle se détruirait spontanément dans l'espace d'une douzaine de jours. Mais on connaît bien les autres ferment (invertine et lactase), on sait qu'ils se conservent longtemps à l'état sec, qu'ils agissent bien, même en présence de fluorure de sodium à 1 pour 100. On devrait donc pouvoir facilement constater la présence de ces ferment dans les sucs de presse des différents organes, sucs précipités par l'alcool-éther et conservés depuis 15 jours ou un mois. J'ai entrepris quelques expériences à ce sujet et elles ne m'ont donné que des résultats négatifs. J'ai consié les précipités que j'ai obtenu au moyen des différents sucs à M. Bierry et Permillieux ; leurs résultats, qui seront publiés prochainement, sont aussi nettement contraires à la présence de lactase ou d'invertine dans les sucs de presse ; ils viennent donc aussi à l'encontre des résultats de Stoklasa et Simacek.

C'est grâce aux bons conseils que m'a prodigués M. G. Bertrand que j'ai pu mener à bien ce travail ; qu'il me soit permis de lui adresser ici mes sincères remerciements.

BIBLIOGRAPHIE

1903. STOKLASA, Dr JULIUS, Der anaërope Stoffwechsel der höheren Pflanzen und seine Beziehungen zur alkoholischen Gärung. (*Hofmeisters Beiträge*, Bd III, Heft. 11 u. 12.)

1903. STOKLASA, Dr JULIUS (unter Mitwirkung des Assistenten Cerny), Ueber die anaërope Athmung der Thierorgane und über die Isolierung eines gärungserregenden Enzyms aus dem Thierorganismus. (*Centralblatt für Physiologie*, XVI, 1903, s. 652.)

1903. STOKLASA, Dr JULIUS, Beiträge zur Kenntnis der aus der Zelle höher organisirter Tiere isolirten, gärungserregenden Enzyme. (*Centralblatt für Physiologie*, XVII, 1903, s. 463.)

1903. STOKLASA, Dr JULIUS, et CZERNY, Beiträge zur Kenntnis der aus der Zelle höher organisirter Thiere isolirten gärungserregenden Enzyme. (*Berichte der deutsch. chemisch. Gesellschaft*, 1903, 63, s. 4038.)

1903. ARNHÉIM, Dr JULIUS, und ROSENBAUM, Dr ADOLF, Ein Beitrag zur Frage der Zuckerstörung im Tierkörper durch Fermentwirkung (Glykolyse) (*Hoppe-Seyler's Zeitschrift*, XL, 1903, s. 220-233.)

1903. BLUMENTHAL, F., Ueber das glykolytische Ferment. (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1903, 51, s. 961.)

1903. HIRSCH, R., Ueber die glykolytische Wirkung der Leber. (*Hofmeisters Beiträge*, IV, 1903, s. 335.)

1903. CONHEIM, O., Die Kohlehydratverbrennung in den Muskeln und ihre Beeinflussung durch das Pankreas. (*Zeitschrift für physiologische Chemie*, XXXIV, p. 336.)

1903. FEINSCHMIDT, J., Ueber das zuckerstörende Ferment in den Organen. (*Hofmeisters Beiträge*, IV, 1903, s. 511.)

1903. SIMACEK, Dr EUGEN, Ueber die Isolierung der hydrolytischen Enzyme aus dem Pankreas und sein glykolytisches Vermögen. (*Centralblatt für Physiologie*, XVII, 1903, s. 299-217.)

1903. SIMACEK, Dr EUGEN, Ein Beitrag zu Conheims « kohlehydrateverbrennung in den Muskeln und ihre Beeinflussung durch das Pankreas »; zugleich eine Gegenkritik. (*Centralblatt für Physiologie*, 1903, XVII, s. 477-485.)

1903. BATELLI, La prétendue fermentation alcoolique des tissus animaux. (*Comptes rendus Académie des Sciences*, 1903, 137, p. 1079-1086.)

1904. STOKLASA, Dr JULIUS, Die glykolytischen Enzyme im tierischen Gewebe. (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1904, s. 198.)

1904. STOKLASA, Dr JULIUS, Alkoholische Gärung im Tierorganismus und die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Tiergewebe. (Unter Mitwirkung von Cerny, Jejinek, Simacek, Viteke.) (*(Pflügers Archiv*, Bd 101, H. 7 ani. 2, s. 311.)

Il nous parut intéressant, à la suite de ce fait, de rechercher quelle était l'évolution de la rage expérimentale chez la mangouste. Dans ce but, nous nous procurâmes un animal de cette espèce, lequel fut inoculé dans la chambre antérieure de l'œil, le 1^{er} juillet avec une émulsion de virus fixe, en même temps que les lapins de passage destinés à la préparation du vaccin antirabique. Les premiers symptômes se montrèrent exactement en même temps (3 juillet) chez les lapins et chez la mangouste. La rage, chez celle comme chez eux, revêtit la forme paralytique. Il n'y eut apparence de phénomènes d'excitation qu'au début, l'animal réagissant lorsqu'on le piquait et mordant alors les objets qu'on lui présentait. Le 10 juillet (9^e jour), ces phénomènes avaient disparu et la paralysie gagnait les muscles des mâchoires ; il nous fut impossible, ce jour, de faire mordre par le raton un lapin qu'on avait introduit dans sa cage. Les jours suivants, les phénomènes paralytiques se généralisèrent progressivement et l'animal mourut le 12 juillet (11^e jour), dans la nuit, en même temps que les lapins de passage.

Deux lapins inoculés dans l'œil le 13 juillet avec une émulsion du bulbe du raton contractèrent la rage le 19 juillet (6^e jour) et moururent l'un le 20, l'autre le 23 juillet. Un troisième lapin inoculé dans l'œil le même jour que les précédents avec une émulsion des glandes salivaires de la mangouste mourut le 19 juillet sans avoir présenté de symptômes rabiques nets ; l'inoculation de ses centres nerveux à un autre lapin donna un résultat négatif.

L'observation que nous avons relatée et le résultat de ces expériences nous amenèrent à rechercher s'il n'existant pas, dans la littérature scientifique, de cas analogues au nôtre. Nos recherches furent négatives. M. le professeur Trolard, directeur de l'Institut Pasteur d'Alger, à l'obligeance duquel nous eûmes recours, nous écrivit qu'il n'avait jamais observé de morsures par mangouste chez les malades traités par lui.

Cependant, en compulsant les archives de l'Institut Pasteur de Tunis, nous découvrîmes une observation analogue à la nôtre et demeurée inédite. Il s'agit d'un indigène algérien, ayant suivi le traitement antirabique du 14 au 31 juillet 1901. Cet

individu avait été mordu aux environs de Bône le 8 juillet par un raton et portait deux plaies, l'une au pouce, l'autre à la face dorsale de la main droite. M. Senac-Pagès, vétérinaire à Bône, qui avait pratiqué l'autopsie de l'animal, concluait à la rage; aucune étude expérimentale ne fut faite dans ce cas.

Un peu plus tard, nous avons eu connaissance de deux autres cas de rage chez la mangouste.

Le 22 janvier 1904, trois Algériens français se présentaient à l'Institut Pasteur de Tunis pour suivre le traitement antirabique; ils avaient été contaminés quelques jours auparavant, à Bône, par la bave d'un chien reconnu enragé à l'examen vétérinaire. Ce chien avait été lui-même mordu 35 jours avant l'apparition des premiers symptômes rabiques par un raton qui lui avait fait des morsures multiples à la tête et aux oreilles; la rage chez ce chien avait revêtu la forme paralytique. L'autopsie du raton ne fut pas pratiquée.

Le dernier fait du même ordre dont nous avons eu connaissance grâce à l'obligeance de MM. Ventre (de Bône) et Boulant, vétérinaire militaire de la même ville, avait été observé en mars 1903 à Héliopolis près Guelma par M. Gauharou, vétérinaire. Ce praticien eut l'occasion de pratiquer l'autopsie d'un raton qui s'était attaqué sans provocation à une femme indigène et l'avait mordue à la face et à la main. Le rapport très détaillé de M. Gauharou, dont nous avons eu la copie entre les mains, concluait nettement à la rage. D'après les renseignements un peu vagues qui nous ont été fournis, la femme mordue aurait succombé à la même maladie.

Ces observations et nos expériences montrent que la mangouste ichneumon est susceptible de contracter la rage et de la transmettre à l'homme ou aux animaux; il y a donc lieu de prendre vis-à-vis des morsures du raton les mêmes précautions que vis-à-vis de celles des chiens errants. Ces précautions sont d'autant plus légitimes que le virus rabique semble augmenter de virulence en passant par l'organisme de la mangouste.

II

(VIRULENCE DES GLANDES *salivaires* chez les lapins inoculés PAR TRÉPANATION avec le virus fixe (LAPINS DE PASSAGE).

Nous avons recherché, par quelques expériences, la virulence des glandes salivaires chez les lapins servant à la préparation du vaccin de la rage (lapins de passage). La question n'a pas une bien grande importance pratique, puisque la rage furieuse n'existe guère chez le lapin et que celui-ci ne figure point parmi les *animaux mordreurs*. Elle n'est cependant pas dépourvue de tout intérêt à ce point de vue, car il peut arriver qu'un employé de laboratoire souille accidentellement ses mains au niveau d'une écorchure avec la haine d'un lapin de passage.

D'autre part, il nous a semblé qu'il y avait là un détail à étudier au point de vue de la répartition de la matière virulente chez les animaux atteints de rage. C'est principalement dans ce but que nous avons institué les expériences dont l'exposé suit :

1^{re} SÉRIE. — Avec une émulsion peu épaisse des trois glandes salivaires d'un lapin de passage (inoculé le 1^{er} avril par trépanation, mort le 9) on inocule sous la dure-mère deux lapins.

Lapin 11. — Inoculé le 9 avril; les symptômes rabiques débutent chez lui le 30 avril (21^e jour), mort le 2 mai (23^e jour). Un passage pratiqué avec les centres nerveux de ce lapin montre qu'il est bien mort de rage légitime: en effet, le *lapin 31* inoculé dans l'œil avec une émulsion du cerveau du lapin 11, présente les premiers symptômes rabiques le 20 mai (18^e jour) et meurt le 22 (20^e jour).

Lapin 60. — Inoculé le même jour — aucun symptôme. — Le 13 juillet (99^e jour), ce lapin est réinoculé par trépanation avec une émulsion de virus fixe, il contracte la rage le 20 juillet (7^e jour) et meurt le 25 (12^e jour), exactement comme les lapins de la série.

(Les lapins de la série inoculés le même jour (9 avril), avec les centres nerveux du lapin de passage dont les glandes salivaires avaient été employées dans les expériences précédentes, sont morts de rage le 20 avril (11^e jour, dans les délais ordinaires).

2^e SÉRIE. — Le même jour, avec une émulsion peu épaisse des trois glandes salivaires d'un autre lapin du même passage, on inocule dans les mêmes conditions deux lapins.

Lapin 5. — Inoculé le 9 avril, — aucun symptôme. — Le 13 juillet (99^e jour), ce lapin est réinoculé avec le même virus fixe et dans les mêmes conditions que le lapin 60, il contracte la rage le 21 juillet (8^e jour) et meurt le 25 (12^e jour).

Lapin 76. — Inoculé le même jour — aucun symptôme. Ce lapin, réinoculé comme le précédent le 13 juillet (99^e jour), est mort des suites du traumatisme opératoire.

3^e SÉRIE. — Avec une émulsion peu épaisse des trois glandes salivaires d'un lapin de passage (inoculé le 9 avril, mort le 20), on inocule, le 20 avril, sous la dure-mère, deux lapins.

Lapin 10. — Inoculé le 20 avril. — Mort le 10 mai (20^e jour) sans avoir présenté de symptômes rabiques nets. — Le même jour, on pratique avec une émulsion de ses centres nerveux, une inoculation dans l'œil du *lapin 28*, celui-ci meurt le 25 mai (13^e jour) sans avoir présenté de symptômes rabiques nets. Le *lapin 94*, inoculé le même jour sous la dure-mère avec une émulsion des centres nerveux du lapin 28, n'a présenté dans la suite aucun symptôme rabique; il a été suivi plus de trois mois.

Lapin 42. — Inoculé le même jour — aucun symptôme. — Le 21 juillet (93^e jour) ce lapin est réinoculé par trépanation avec une émulsion de virus fixe, il contracte la rage le 28 juillet (7^e jour) et meurt le 3 août (13^e jour) avec un très léger retard sur les lapins de la série, morts exactement le 11^e jour.

(Les lapins de la série inoculés le même jour (20 avril), avec les centres nerveux du lapin de passage dont les glandes salivaires avaient été employées dans les expériences précédentes, sont morts de rage le 30 avril (10^e jour) dans les délais ordinaires.)

4^e SÉRIE. — Avec une émulsion peu épaisse des trois glandes salivaires d'un lapin de passage (inoculé le 29 décembre, mort le 11 janvier), on inocule, le 11 janvier, sous la dure-mère, deux lapins.

Lapin 27. — Inoculé le 11 janvier — aucun symptôme. — Le 16 avril (93^e jour) ce lapin est réinoculé par trépanation avec une émulsion de virus fixe, il contracte la rage le 27 avril (11^e jour) et meurt le 30 avril (14^e jour), avec un très léger retard sur les lapins de la série morts aux 10^e et 11^e jours.

Lapin 71. — Inoculé le même jour — aucun symptôme. — Le 16 avril (93^e jour) ce lapin est réinoculé dans les mêmes conditions et avec le même virus que le lapin 27, il contracte la rage le 22 avril (8^e jour) et meurt le 25 (10^e jour) exactement dans les mêmes délais que les lapins de la série.

(Les lapins de passage inoculés le même jour, avec les centres nerveux du lapin dont les glandes salivaires avaient servi dans les expériences précédentes, sont morts de rage dans les délais ordinaires.)

5^e SÉRIE. — Le même jour, avec une émulsion peu épaisse des trois glandes salivaires d'un lapin du même passage, on inocule, dans les mêmes conditions, un autre lapin.

Lapin 13. — Inoculé le 11 janvier, symptômes rabiques débutant le 21 janvier (10^e jour), mort le 22 (11^e jour) en même temps que les lapins de la série. Un passage, pratiqué avec les centres nerveux de ce lapin, montre qu'il est bien mort de rage légitime; en effet le *lapin 84* inoculé dans l'œil avec une émulsion du cerveau du lapin 13, contracte la rage le 4 février (10^e jour) et meurt le 6 (12^e jour).

En résumé, sur neuf lapins inoculés par trépanation avec une émulsion de glandes salivaires de lapins de passage :

2 ont contracté la rage, l'un dans les délais normaux, l'autre avec un retard de dix jours sur les lapins de la série ayant reçu sous la dure-mère une émulsion des centres nerveux du même apin.

6 n'ont présenté aucun symptôme. Dans ce cas, il ne semble pas que l'inoculation de l'émulsion des glandes salivaires ait créé chez eux la plus légère augmentation de résistance vis-à-vis du virus fixe ; en effet, une inoculation d'épreuve, pratiquée avec ce virus a été suivie de l'apparition des symptômes rabiques et de la mort dans un temps qui n'a excédé que deux fois seulement, et de fort peu (1 et 2 jours), les délais ordinaires.

Chez un lapin, le résultat a été douteux (lapin 10).

Il est à noter qu'une même émulsion (série I), inoculée à deux lapins, a déterminé chez l'un l'apparition d'un érage typique, tandis que chez l'autre elle s'est montrée dépourvue de toute activité.

La conclusion à tirer de ces expériences paraît être la suivante : *Les glandes salivaires des lapins de passage ne sont que rarement virulentes* (une fois sur quatre), elles ne contiennent qu'une aible quantité de virus, mais la virulence de celui-ci, lorsqu'il s'y montre, n'y est nullement atténuée.

Pratiquement, il y a lieu de prendre des précautions dans les laboratoires vis-à-vis de la bave des lapins de passage.

III

LA RAGE EXPÉRIMENTALE CHEZ LE RAT

L'étude de la rage expérimentale chez le rat ne semble pas avoir tenté jusqu'à présent de nombreux auteurs. Le seul document que nous connaissons sur la question est une courte note de M. Remlinger¹, consacrée surtout à l'étude de la rage expérimentale de la souris. Dans cette note, l'auteur se borne à nous apprendre que le rat blanc et le rat tigré (il n'a pas opéré sur le rat gris), se comportent vis-à-vis du virus fixe comme la souris blanche et qu'une inoculation sous-cutanée ou intramusculaire

¹. Société de Biologie, 9 janvier 1904.

de ce virus leur donne la rage dans un cas sur deux. Cette absence de documents étonne d'abord, car le rat figure comme *animal mordeur* dans les statistiques de quelques Instituts antirabiques (Kharkoff-Constantinople). Elle s'explique cependant facilement par la difficulté de l'expérimentation sur ces animaux, principalement sur le rat gris. Le maniement en est en effet délicat, dangereux même pour l'opérateur : d'autre part, la sensibilité du rat aux anesthésiques (chloroforme surtout) rend l'emploi de ceux-ci pratiquement impossible.

Plus heureux que nos devanciers, nous avons pu pratiquer quelques expériences sur ces animaux. Les raisons que nous venons d'indiquer expliquent le petit nombre de celles qui ont eu le rat gris pour objet.

Nous avons perdu d'ailleurs la plupart des animaux de cette espèce, du fait de l'anesthésie ou des suites du traumatisme opératoire, lorsque nous avons cherché à pratiquer chez eux l'inoculation intracranienne sans anesthésie, ce qui est cependant le seul procédé pratique.

Voici le résumé de nos expériences :

INOCULATION DE VIRUS FIXE.

1^o AU RAT GRIS. — *Rat 7.* — Inoculé le 16 mars 1903, dans la chambre antérieure de l'œil, avec une goutte d'une émulsion épaisse de virus fixe provenant d'un lapin de passage mort le même jour. Premiers symptômes rabiques le 26 (10^e jour), paralysie du train postérieur à marche rapide, aucun phénomène d'excitation, l'animal mord seulement quand on le pique ; le soir du même jour la paralysie est presque complète et l'animal meurt le 27 au matin (11^e jour).

Ce même jour, avec les centres nerveux du rat qui vient de mourir, on inocule dans la chambre antérieure de l'œil un *lapin* n° 64 et un *rat* n° 9. Le lapin meurt le 4 avril (8^e jour), après avoir présenté depuis le matin les symptômes rabiques les plus nets. Le rat présente les premiers symptômes de la rage dès le 1^{er} avril (5^e jour) et meurt le 2 (6^e jour). Un *rat* n° 10 inoculé dans l'œil, le même jour, avec les centres nerveux du rat 9, contracte la rage le 16 avril (14^e jour) et meurt le lendemain (15^e jour).

Nous avons recherché qu'elle était la virulence des glandes salivaires du rat 7. Une goutte d'une émulsion d'un mélange des trois glandes, inoculée dans la chambre antérieure de l'œil du *lapin* 64 le 27 mars, a déterminé chez lui l'apparition d'une rage typique avec mort le 7 avril (11^e jour) ; d'autre part un *rat* n° 8, inoculé dans les mêmes conditions, est demeuré indemne de rage.

Rat 5. — Inoculé le 14 mars 1903, dans la chambre antérieure de l'œil, avec une goutte d'une émulsion épaisse de virus fixe provenant d'un lapin de passage mort le même jour. Ce rat est trouvé mort le 26 mars (12^e jour) sans avoir présenté aucun symptôme rabique net. Un lapin inoculé avec les centres nerveux de ce rat est mort des suites du transmatisme opératoire.

Rat 6. — Inoculé le 14 mars, dans les muscles de la cuisse, avec le même virus que le rat 5, n'a présenté ultérieurement aucun symptôme rabique.

2^e AU RAT BLANC. — *Rat 1.* — Inoculé le 12 janvier 1904, sous la dure-mère, avec une goutte d'émulsion épaisse de virus fixe provenant d'un lapin de passage. Ce rat est trouvé mort le 19 janvier au matin (7^e jour), sans avoir présenté le moindre symptôme rabique. (Il est à noter que la cage renfermant le rat avait été laissée en plein air et que la nuit du 18 au 19 janvier a été exceptionnellement froide : + 3°).

Le lapin 43 inoculé dans l'œil le 19 janvier avec une émulsion des centres nerveux du rat 1, a contracté la rage le 27 janvier (8^e jour) et est mort le 30 (11^e jour).

Rat 2. — Inoculé le même jour et avec le même produit que le rat 1, mais l'inoculation ayant été faite dans la chambre antérieure de l'œil. Les premiers symptômes rabiques ont apparu chez ce rat le 19 (7^e jour), ils se sont caractérisés par une parésie du train postérieur, avec quelques phénomènes d'excitation et de la tendance à mordre. Les jours suivants la paralysie est devenue plus étendue et plus complète, les phénomènes d'excitation ont cessé; l'animal est mort le 22 juin. Le lapin 96, inoculé ce jour sous la dure-mère, avec une émulsion d'un mélange des glandes salivaires du rat 2, n'a présenté ultérieurement aucun symptôme; réinoculé par trépanation avec un virus de passage le 29 avril, il a contracté la rage sous la forme classique et est mort le 7 mai (8^e jour).

Rat 3. — Inoculé le même jour que le rat 2 avec le même produit et comme lui dans la chambre antérieure de l'œil. Les premiers symptômes ont apparu le 20 janvier (8^e jour). L'évolution a été identique à celle décrite pour le rat 2, mort le 22 (10^e jour). Le lapin 36, inoculé ce jour sous la dure-mère avec une émulsion des centres nerveux du rat 3, a contracté la rage le 28 janvier (6^e jour) et est mort le 30 (8^e jour). Le lapin 2, inoculé dans la chambre antérieure de l'œil avec une émulsion d'un mélange des glandes salivaires du rat 3, a contracté la rage le 14 février (23^e jour) et est mort le 17 (26^e jour).

Rat 4. — Inoculé dans les muscles le même jour et avec le même produit que les rats 2 et 3 il n'a présenté aucun symptôme. Réinoculé avec une émulsion de virus fixe sous la dure-mère le 22 avril, il a contracté la rage le 28 (3^e jour) et est mort le 1^{er} mai (9^e jour).

Rat 11. — Inoculé dans les muscles comme le précédent. Aucun symptôme; mort le 21 janvier (9^e jour). Aucun passage n'a été pratiqué avec les centres nerveux de cet animal.

INOCULATIONS DE VIRUS DES RUES.

Les expériences qui suivent ont été pratiquées avec les centres nerveux d'un chien mort de rage spontanée le 13 janvier au matin. Le lapin 1, inoculé dans la chambre antérieure de l'œil, a contracté la rage le 28 janvier

(13^e jour) et est mort le 30 (17^e jour). Avec le même produit, le même jour, on inocule trois rats blancs :

Rat 12. — Inoculé *sous la dare-mère*. N'a présenté aucun symptôme. Mort dans la nuit du 24 au 25 janvier (12^e jour). Le *lapin 34*, inoculé ce jour dans la chambre antérieure de l'œil avec une émulsion des centres nerveux du rat 12 a contracté la rage le 6 février (12^e jour) et est mort le 7 (13^e jour).

Rat 13 — Inoculé *dans la chambre antérieure de l'œil*. N'a présenté aucun symptôme. Mort le 9 février (15^e jour). Un passage pratiqué sur le *lapin 34* n'a donné aucun résultat, cet animal étant mort accidentellement le lendemain de l'inoculation.

Rat 14 — Inoculé *dans les muscles de la cuisse*. Aucun symptôme, encore vivant en juin.

En résumé, dans ces expériences, la totalité des rats gris (4) ou blancs (3), inoculés *sous la dare-mère* (1) ou *dans la chambre antérieure de l'œil* (6), avec une émulsion de virus fixe, a contracté la rage ; il en a été de même des rats blancs (2) inoculés semblablement avec un virus des rues. L'inoculation intramusculaire de ces mêmes virus ne nous a donné que des résultats négatifs, sauf cependant dans un cas (rat 14) douteux.

Les centres nerveux des rats ayant succombé à la rage se sont montrés, d'une façon constante, virulents et souvent même doués d'une virulence exaltée pour le lapin et pour le rat ; dans un cas, nous avons pu réaliser trois passages successifs par cet animal.

Les glandes salivaires du rat atteint de rage sont souvent virulentes pour le lapin (2 fois sur 3).

Le rat (gris ou blanc) est donc un animal parfaitement sensible à la rage et susceptible, dans des cas évidemment très rares, de communiquer cette maladie à l'homme ou aux animaux.

Malgré sa sensibilité au virus rabique, le rat ne sera que bien rarement choisi comme animal d'étude de la rage. La difficulté de l'expérimentation sur lui est un premier obstacle. D'autre part, l'évolution de la rage chez le rat est souvent si rapide, qu'il est impossible de reconnaître la nature de l'infection à laquelle succombe l'animal inoculé. Sur un total de neuf rats ayant

1. Nous ne comptons pas dans ce total le rat 11, mort également sans symptômes, parce qu'il nous manque la preuve absolue qu'il ait succombé à la rage.

contracté la rage dans nos expériences, quatre sont morts sans avoir présenté le moindre symptôme, et des passages ont été nécessaires pour démontrer que leur mort était bien due à l'inoculation du virus.

Statistique des personnes traitées à l'Institut Pasteur de Tunis PENDANT L'ANNÉE 1903

PAR M. CH. NICOLLE

Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis.

Du 1^{er} janvier, date de notre entrée en fonctions, au 21 décembre 1903, 284 personnes ont suivi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur. De ce chiffre, on doit retrancher 5 personnes ayant interrompu le traitement au bout de quelques jours pour causes diverses et 3 autres appartenant au personnel de l'Institut, ces dernières ayant subi des inoculations préventives *sans morsure antérieure*. Restent donc 274 personnes traitées. *La mortalité a été nulle.*

On peut ainsi classer les cas : morsures à la tête : 22; aux mains : 137; au tronc et aux membres : 115. L'existence de la rage chez l'animal mordeur a été reconnue expérimentalement dans 38 cas; 110 fois elle l'a été par un examen vétérinaire; dans 126 cas l'animal était suspect de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens 242, chats 11, bovidés 8, ânes 3, mules 3, chacals 3, mangoustes 2. C'est la première fois, croyons-nous, que la mangouste figure dans une statistique parmi les animaux mordeurs; ce fait nous a paru assez intéressant pour faire l'objet de la note précédente.

Sur les 274 personnes traitées, 170 avaient leur domicile en Tunisie (Français 70, Italiens 3, Grec 1, Maltais 6, Israélites 2, Arabes 65), 104 venaient d'Algérie. (Province de Constantine.) Une des personnes domiciliées en Tunisie avait été mordue à Lyon.

La méthode employée à l'Institut Pasteur de Tunis pour le traitement préventif de la rage consiste dans l'emploi de moëlles glycérinées (procédé de M. Calmette). Dans les cas ordinaires, la succession des moëlles est la suivante : 1^{er} jour, moelle de

13 jours le matin, de 11 le soir; 2^e jour, moelle de 9-10 le matin, de 7-8 le soir; 3^e jour moelle de 6 jours, puis les jours suivants successivement moelles de 5, 5, 4, 3, 5, 5, 4, 4, 3, 3, 5, 5, 4, 4, 3, 3 jours. Soit 21 inoculations en 19 jours. La quantité d'émulsion inoculée est de 6 centimètres cubes jusqu'à la moelle de 6 jours, puis 4 centimètres cubes. En cas de morsure particulièrement grave ou de retard très grand dans le traitement, nous opérons ainsi : 1^{er}, 2^e et 4^e jours comme ci-dessus, avec cette différence que la dose d'émulsion inoculée est portée à 10 centimètres cubes; puis les jours suivants, successivement moelles de 3, 5, 5, 4, 3, 2, 5, 5, 4, 4, 3, 3, 2, 5, 5, 4, 4, 3, 2 jours (4 centimètres cubes d'émulsion); soit 22 jours de traitement et 24 inoculations dont trois de moelle de 2 jours. On notera que pour ce traitement intensif, nous passons au début, de la moelle de 6 à celle de 3 jours

La dernière statistique des résultats du traitement antirabique publiée par l'Institut Pasteur de Tunis¹ s'arrêtait au 15 juillet 1901. De cette date au 1^{er} janvier 1903, le service antirabique dirigé par MM. Ducloux et Allemand-Martin a eu à soigner 349 personnes, desquelles il faut en retrancher 9 pour causes diverses. Restent 340 traités. Il y a eu 2 décès, dont un chez un indigène ayant succombé le 8^e jour après la fin du traitement. Suivant les règles habituelles, ce décès ne doit pas être retenu, l'immunité n'étant acquise que 15 jours après la dernière inoculation. La mortalité rectifiée a donc été d'une personne sur 339, soit 0, 29 0/0.

Les castrés peuvent se répartir ainsi : morsures à la tête 19; aux mains 158; au tronc et aux membres : 162. L'existence de la rage a été démontrée expérimentalement dans 22 cas, par un examen vétérinaire 139 fois; dans 176 cas, l'animal était suspect de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens 224, chats 11, bovidés 2, ânes 6, mangouste 1.

Sur 339 personnes traitées, 266 avaient leur domicile en Tunisie, 73 venaient d'Algérie.

Depuis la publication de la dernière statistique de l'Institut Pasteur de Tunis, un décès par rage s'est produit chez une

¹. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 mai 1902. Pages 286 et suivantes.

des personnes portées comme guéries; les chiffres publiés doivent donc être ainsi rectifiés: 827 traités, 4 décès, mortalité : 0,44 0/0.

Au total, depuis sa création jusqu'au 31 décembre 1903, l'Institut Pasteur a soigné 1.440 personnes, 5 seulement ont contracté la rage; soit une mortalité de 0, 34 9/0.

OBSEERVATIONS DES PERSONNES AYANT CONTRACTÉ LA RAGE

ANNÉE 1901. — Belkassem ben Ali Abrouk, indigène musulman, 8 ans, de Mokenine, caïdat de Monastir, contreïe civil de Sousse, mordu le 17 avril au mollet gauche par un chien errant, trois morsures. Traité à l'Institut Pasteur du 29 avril au 19 mai. Décédé vers le 20 juin d'une affection qui semble être la rage. Il n'y a pas eu d'examen médical du malade.

ANNÉE 1902. — Mohamel ben Hassia el Amari, indigène musulman, 7 ans, de Mahdia, mordu le 24 janvier au poignet et à la fesse gauche, plaies pénétrantes. Le chien mordeur a été examiné par un médecin qui a porté le diagnostic de rage. Aucun scola local. Traité à l'Institut Pasteur du 29 janvier au 21 février; décédé le 12 avril, d'une affection qui semble être la rage, mais au sujet de laquelle aucun détail n'a été donné à l'Institut Pasteur.

Le même chien aurait mordu deux chiens, un chat, un chameau et quatre personnes, dont une a suivi le traitement avec succès (aucun renseignement n'a été fourni sur les trois autres).

Le gérant : G. Masson.

Secauv. — Imprimerie Charraire.